

Steady-state- und transientes Verhalten von
Säuren-Basen-Parametern und Erythrozytenvolumen
bei der Bindung von CO_2 im Blut
(Entwicklung eines schnell ansprechenden CO_2 -Meßsystems)

DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
der

Abteilung für Biologie
an der Ruhr-Universität Bochum

von

Alwin Luttmann

Bochum 1977

Steady-state- und transientes Verhalten von
Säuren-Basen-Parametern und Erythrozytenvolumen
bei der Bindung von CO_2 im Blut
(Entwicklung eines schnell ansprechenden CO_2 -Meßsystems)

DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

der

Abteilung für Biologie
an der Ruhr-Universität Bochum

von

Alwin Luttmann

Bochum 1977



Dissertation eingereicht am : 31.1.1977
Tag der mündlichen Prüfung : 15.3.1977
Referent : Prof. Dr. Dr. h.c. Loeschke
Korreferent : Prof. Dr. Lüttgau

Inhaltsverzeichnis

Seite

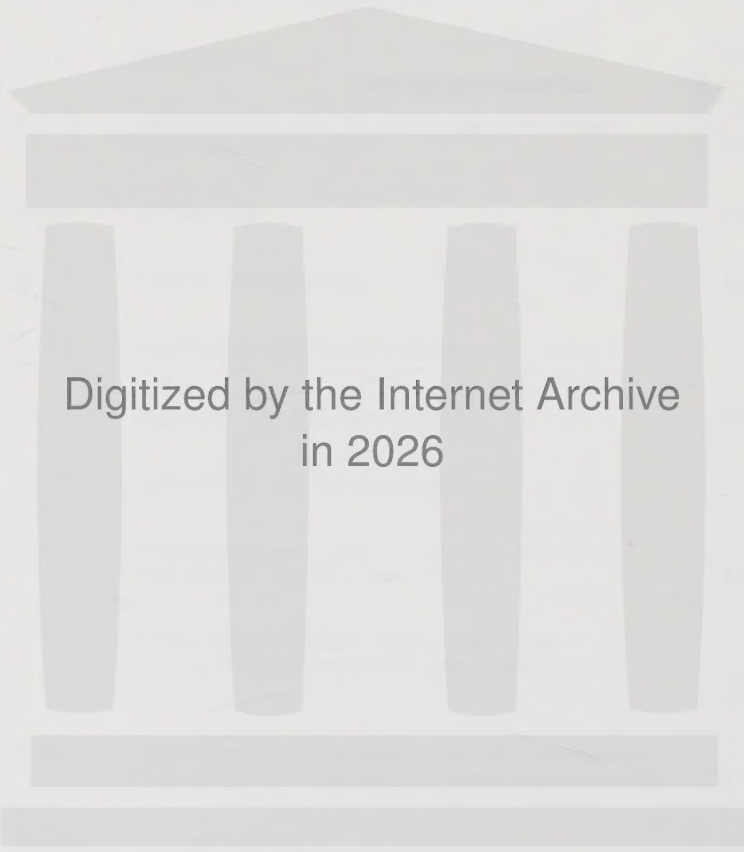
1.	EINLEITUNG	1
2.	METHODEN	4
2.1	Versuchsmaterial	4
2.1.1	Blut	4
2.1.2	Isoliertes Plasma	4
2.1.3	Wahres Plasma	4
2.2	Versuchsaufbau und Versuchsablauf	5
2.2.1	Vortonometrierung	5
2.2.2	Bestimmung des steady-state-Zusammenhanges zwischen Säuren-Basen-Parametern und elek- trischem Widerstand	5
2.2.2.1	Messungen an Vollblut und isoliertem Plasma	5
2.2.2.2	Messungen an wahren Plasma	5
2.2.3	Aufbau zur Messung der Transienten	7
2.2.4	Abhängigkeit des Widerstandes vom Hämato- kritwert	10
2.3	Messungen	10
2.3.1	pH-Messung	10
2.3.2	pCO ₂ -Messung	10

	Seite
2.3.3	Messung des elektrischen Widerstandes 11
2.3.3.1	Allgemeines zum Aufbau der Leitfähigkeits- meßzelle 11
2.3.3.2	Aufbau der Widerstandsmeßeinrichtung 12
2.3.4	Verwendete Meßverstärker 13
2.3.5	Auswertung des Säuren-Basen-Status 13
2.4	Rechnerische Verfahren 13
2.4.1	Fourier-Transformation 13
2.4.2	'Peeling-Verfahren' 14
3.	AUFBAU EINES CO ₂ -ELEKTRODENSYSTEMS MIT KURZER EINSTELLZEIT UND SEINE ANWENDUNG IN STRÖMENDEN GASEN UND FLÜSSIGKEITEN 15
3.1	Aufbau der Elektrode 16
3.2	Linearisierung der Eichkurve 17
3.3	Untersuchung des Einstellverhaltens in Gas 18
3.4	Entzerrung des Frequenzganges 19
3.4.1	Prinzip 19
3.4.2	Analyse des Einstellverhaltens und struk- tureller Aufbau eines Modellsystems 22
3.4.3	Aufbau der Entzerrungsschaltung 25
3.4.4	Abgleichverfahren 27

	Seite
3.5	Untersuchungen zum dynamischen Verhalten in strömenden Flüssigkeiten
3.5.1	Versuchsaufbau
4.	ERGEBNISSE 31
4.1	Ergebnis der Frequenzganglinearisierung 31
4.1	Ergebnisse der Messungen in gasförmigen Medien und Vergleich mit Modellberechnungen 31
4.1.2	Ergebnisse der Messungen in flüssigen Medien und Vergleich mit Modellberechnungen 33
4.2	Ergebnisse der Messungen zur steady-state- Beziehung von Säuren-Basen-Zustand und elektrischem Widerstand 43
4.2.1	Untersuchungen an Vollblut 43
4.2.2	Untersuchungen an isoliertem Plasma 46
4.2.3	Untersuchungen an wahren Plasma 47
4.3	Zusammenhang zwischen elektrischem Wider- stand und Hämatokritwert 48
4.4	Ergebnisse der Messungen zum transienten Verhalten der Säuren-Basen-Parameter und des elektrischen Widerstandes 49
4.4.1	Untersuchungen an isoliertem Plasma 49
4.4.2	Untersuchungen an Vollblut 55
4.4.3	Untersuchungen an Blut mit Acetazolamid 58

	Seite
5. DISKUSSION	61
5.1 Kritik der Methoden und Fehlerquellen	61
5.1.1 Alterung des Blutes	61
5.1.2 Temperatur	61
5.1.3 Abhängigkeit der CO_2 -Aufnahme vom Oxygenierungsgrad des Hb	61
5.1.4 pH-Messung	62
5.1.5 Widerstandsmessung	62
5.1.6 Bestimmung der Reaktionszeit	63
5.1.7 Begasung der Meßflüssigkeit	64
5.1.8 Verwendung von Acetazolamid	65
5.2 Zusammenfassung und Diskussion der Meßergebnisse in Blut und Plasma	65
5.2.1 Steady-state-Zusammenhang zwischen Säuren-Basen-Parametern und Hämatokritwert	65
5.2.2 Das transiente Verhalten der Säuren-Basen-Parameter und des elektrischen Widerstandes	73
5.2.2.1 Verlauf des p_{CO_2}	73
5.2.2.2 Verlauf des pH-Wertes	76
5.2.2.3 Verlauf des Widerstandes	81

6.	ZUSAMMENFASSUNG	Seite 84
7.	LISTE DER SYMBOLE UND EINHEITEN	87
8.	LITERATURVERZEICHNIS	92



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546603_0033

1. EINLEITUNG

Da die Proteinkonzentration im Innern der Erythrozyten größer ist als im Blutplasma, ergibt sich aus Gründen der Elektroneutralität für die Ionen, die die Membran passieren können, eine ungleiche Verteilung auf die beiden Phasen des Blutes. Die theoretische Beschreibung des thermodynamischen Gleichgewichtes in einem solchen Zweiphasensystem erfolgte durch GIBBS (1906) und DONNAN (1911), die Gültigkeit dieser Theorie des heterogenen Gleichgewichtes für das Blut wurde zum ersten Mal durch die Arbeiten von van SLIKE, WU und Mc LEAN (1923) nachgewiesen. Die Verteilung der Ionen auf die beiden Kompartimente wird durch den Donnanfaktor charakterisiert.

Mit steigender Wasserstoffionenkonzentration sinkt der Ladungsgrad der Proteine ab und der Donnanfaktor steigt an, d.h. die Ionenverteilung nähert sich immer mehr der Gleichverteilung. Bei diesem Prozeß hat sich die Gesamtzahl der osmotisch wirksamen Teilchen im Intrazellularraum stärker erhöht als im Extrazellularraum. Der Ausgleich der osmotischen Druckdifferenz zwischen den Phasen erfolgt durch einen Einstrom von Wasser in die Zellen. Die Wasserverschiebung wurde bereits 1894 durch v. LIMBECK beobachtet. Quantitative Messungen wurden dann von WARBURG (1922) und von van SLIKE et al. (1923) durchgeführt. Van SLIKE et al. (1923) und HENDERSON (1932) beschreiben den Vorgang auf der Basis der Gibbs-Donnan'schen Theorie. Eine Modellbeschreibung, die auch die aktiven Transportmechanismen durch die Erythrozytenmembran für Kalium und Natrium mit einbezieht, erfolgte durch MÜCKENHOFF (1973).

Alle genannten Untersuchungen wurden für den Zustand des thermodynamischen Gleichgewichtes zwischen den beiden Kompartimenten durchgeführt. Das Ziel dieser Arbeit war es, die Volumenänderung der Erythrozyten infolge der CO_2 -Aufnahme in ihrer Abhängigkeit vom CO_2 -Partialdruck und vom pH-Wert zu erfassen und zwar sowohl in ihrer steady-state Relation als auch bezüglich des dynamischen Verhaltens.

Messungen zum transienten Verlauf des CO_2 -Partialdruckes und des pH-Wertes wurden für Erythrozytensuspensionen von CONSTANTINE,

CRAW und FORSTER (1965), HOLLAND und FORSTER (1975) sowie von CRANDELL, KLOCKE und FORSTER (1971), FORSTER (1972) und FORSTER und CRANDELL (1975) durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Messungen sollen mit unseren Messungen in Vollblut verglichen werden.

Um auch das transiente Verhalten des Erythrozytenvolumens bestimmen zu können, war es erforderlich, ein Meßverfahren anzuwenden, das eine kontinuierliche Messung des Volumenanteils der Blutzellen am Gesamtvolumen gestattet. Da die Erythrozytenmembran isolierende Eigenschaften besitzt, ist es möglich, den elektrischen Widerstand des Blutes als Maß für die Volumenverteilung zu bestimmen. Diese Methode gestattet eine kontinuierliche und praktisch verzögerungsfreie Messung. Es sind zu dieser Thematik zahlreiche Arbeiten veröffentlicht worden: MAXWELL (1873) gibt eine Theorie an, die die Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit eines Mediums, in dem isolierende Kugeln aufgeschwemmt sind, erlaubt. FRICKE (1924, 1925a), VELICK und GORIN (1940) und EDGERTON (1974) haben diese Theorie weiterentwickelt für andere geometrische Formen der in der Lösung aufgeschwemmten Isolatoren. Messungen zum elektrischen Widerstand erfolgten durch FRICKE (1925b), FRICKE und MORSE (1925), PONDER (1935), SCHWAN (1941, 1948), RAJEWSKY und SCHWAN (1944), OKADA und SCHWAN (1960), GEDDES und SADLER (1973), HILL und THOMPSON (1975) und weitere. Es wurde dabei durch entsprechende Messungen gezeigt, daß es auch möglich ist, osmotisch bedingte Volumenverschiebungen zu erfassen (PONDER, 1935, LUTTMANN, MÜCKENHOFF und LOESCHCKE, 1976).

Die Messung des CO_2 -Partialdruckes erfolgt mit Hilfe einer CO_2 -Elektrode, die aufgebaut war wie von STOW und RANDALL (1954), STOW, BAER und RANDALL (1957) und von GERTZ und LOESCHCKE (1958) angegeben.

Zur Erzielung einer kurzen Einstellzeit wurde ein elektronisches Verfahren zur Linearisierung des Frequenzganges der Elektrode entwickelt (LUTTMANN, MÜCKENHOFF und LOESCHCKE, 1974) und seine Verwendbarkeit in strömenden Flüssigkeiten meßtechnisch und theoretisch überprüft (LUTTMANN und MÜCKENHOFF, 1975). Die Entwicklung eines schnell anzeigenden CO_2 -Meßverfahrens war vor allem notwendig in Hinblick auf die Messungen zum dynamischen Verhalten des Blutes bei der CO_2 -Aufnahme. Durch die Anwendung dieses Verfahrens werden

außerdem Fehler, die durch lange Meßzeiten (Alterungsprozesse, Sedimentation) bedingt sind, auf ein Minimum beschränkt.

2. METHODEN

2.1 Versuchsmaterial

2.1.1 Blut

Die Versuche wurden durchgeführt mit Rinderblut. Das Blut wurde aus der vena iugularis während der Tötung der Tiere gewonnen und sofort mit Glukose (35 g l^{-1}) und Polyaethensulfonat (160 mg l^{-1}) versetzt. Die Aufbewahrung des Blutes erfolgte im Kühlschrank bei ca. 4°C . Für die Auswertung wurden nur Versuche herangezogen, die innerhalb von 6 Stunden nach der Tötung der Tiere durchgeführt wurden.

Für eine Anzahl von Versuchen wurde dem Blut Acetazolamid (250 mg l^{-1}) zugesetzt. Zur Erzielung einer ausreichenden Hemmung der Kohlen-säureanhydratase wurden die Versuche frühestens 3 Stunden nach Zugabe des Acetazolamids durchgeführt. (CRAW, CONSTANTINE, MORELLO und FORSTER, 1963, SCHULTEHINRICHS, VOGEL und THEWS, 1968). Die Dosis ist nach WIETH (1972) ausreichend für eine 99,9 %ige Hemmung der Kohlensäureanhydratase.

2.1.2 Isoliertes Plasma

Zur Plasmagewinnung wurde Blut bei 4000 - 5000 Umdrehungen/min mit einer Beschleunigung von 2700 - 4200 g über 20 min. zentrifugiert.

2.1.3 Wahres Plasma

Zur Gewinnung von wahren Plasma erfolgte die Zentrifugation wie oben beschrieben. Die Blutprobe war dabei durch eine 1 bis 1,5 cm dicke Schicht von Paraffin gegenüber der Luft abgeschlossen. Das Paraffin hatte durch Äquilibration mit einem CO_2 -Luft-Gemisch einen Partialdruck von etwa 40 Torr. Dadurch bleibt im Mittel der Fehler klein, der durch CO_2 -Diffusion zwischen Blut und Paraffin entsteht.

2.2 Versuchsaufbau und Versuchsablauf

2.2.1 Vortonometrierung

Vor Beginn eines jeden Versuches wurde das Versuchsmaterial (Blut, Plasma) auf 37°C erwärmt und durch Durchströmung eines auf 37°C angewärmten und befeuchteten O₂-CO₂-Gemisches ($F_{CO_2} = 0,02$) vor-äquibriert.

2.2.2 Bestimmung des steady-state Zusammenhanges zwischen Säuren-Basen-Parametern und elektrischem Widerstand

2.2.2.1 Messungen an Vollblut und isoliertem Plasma

Nach Vortonometrierung und Erwärmung wird zur Messung die Meßflüssigkeit in einen thermostatisierten Behälter eingefüllt. Durch Zugabe eines CO₂-O₂-Gemisches ($F_{CO_2} = 0.3$) oder durch Zugabe reinen Sauerstoffs kann der CO₂ - Partialdruck im Blut erhöht oder erniedrigt werden. Dazu werden die Gase zuvor erwärmt und befeuchtet. Während des Versuches wird die Flüssigkeit mit einem Rührstab leicht gerührt, um eine homogene Verteilung des CO₂ zu erzielen und um Sedimentation zu verhindern.

Mit einer Saugpumpe wird dann das Blut bzw. das Plasma durch die Meßsysteme gesaugt: zunächst durch die Widerstandsmeßzelle, dann durch die pH- und durch die p_{CO₂}-Meßeinrichtung (Abb. 1).

Registriert wurden als Funktionen der Zeit der pH-Wert, der CO₂-Partialdruck und der elektrische Widerstand. Mit X-Y-Schreibern wurden zusätzlich in einer Anzahl von Versuchen der Widerstand als Funktion des pH-Wertes und als Funktion des CO₂-Partialdruckes direkt registriert.

2.2.2.2 Messungen an wahren Plasma

Zur Bestimmung des Widerstandes von wahren Plasma wurde in folgender Weise vorgegangen:

Durch Zugabe eines CO₂-O₂-Gemisches bzw. durch Zugabe von O₂ wird der p_{CO₂} im Blut stufenweise geändert und dann jeweils eine

Probe entnommen und unter Luftabschluß zentrifugiert. Nach Wiedererwärmung der Plasmaprobe auf 37°C werden der Widerstand, der pH-Wert und der CO_2 -Partialdruck in gleicher Weise wie bei Blut und isoliertem Plasma gemessen. Der Vergleich der pH- und pCO_2 -Werte vor und nach der Zentrifugation zeigen an, ob bei der Entnahme und Behandlung der Probe Fehler aufgetreten sind (z.B. mangelnder Luftabschluß).

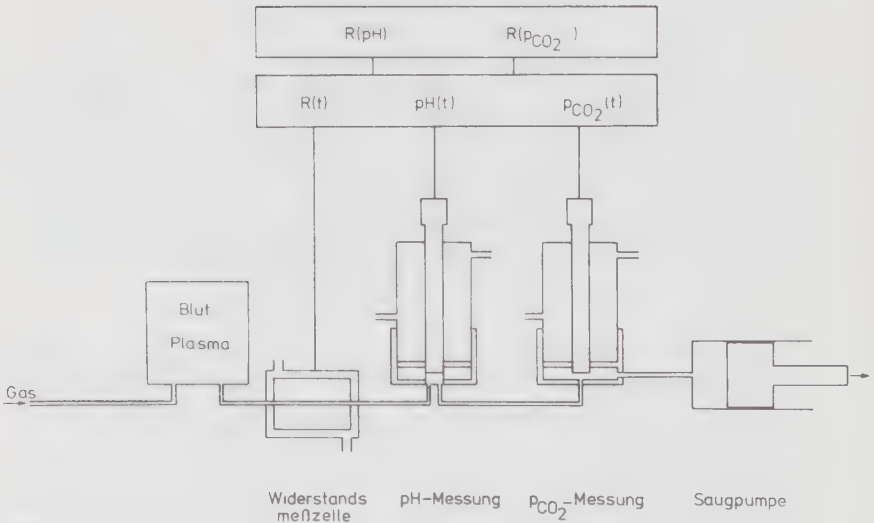


Abb. 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus für die steady-state Messungen

2.2.3 Aufbau zur Messung der Transienten

Zur Untersuchung der transienten Vorgänge wurde eine Anordnung benutzt, die dem von HARTRIDGE und ROUGHTON (1923) angegebenen Verfahren zur Untersuchung des Zeitablaufs chemischer Reaktionen ähnelt. In einer Mischkammer werden dazu die Reaktionspartner kontinuierlich zusammengebracht. Das Gemisch fließt dann durch ein Rohr: Während dieses Durchlaufens läuft die Reaktion ab. Der Zeitverlauf der Reaktion ist auf dem Rohr als Ortsfunktion abgebildet. Die Anordnung wurde für unsere Untersuchungen abgeändert, da ein Reaktionspartner in Gasform (CO_2) vorliegt.

Eine schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zeigt Abb. 2. Die Meßflüssigkeit (Blut, Plasma) und ein CO_2 - O_2 -Gemisch werden in Punkt a zusammengebracht. Bis zum Punkt b werden die beiden Substanzen miteinander fließen, ein Teil des CO_2 wird vom Blut aufgenommen, der überschüssige Teil des Gases tritt bei b mit dem Blut wieder aus.

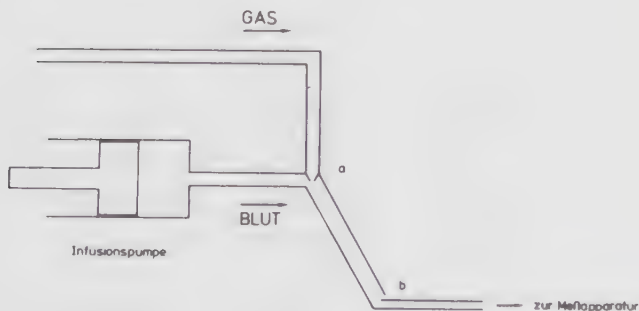


Abb. 2: Schematische Darstellung der Begasungseinrichtung zur Untersuchung der Transienten. Am Punkt a werden die Meßflüssigkeit und das Gas zusammengeführt. Sie fließen gemeinsam bis zum Punkt b. Dort tritt das überschüssige Gas aus. Ein Teil der Meßflüssigkeit wird bei b abgesaugt und der Meßapparatur zugeführt.

Ein Anteil der bei b austretenden Meßflüssigkeit wird durch die Meßapparatur gesaugt, die überschüssige Flüssigkeit fließt ab.

Die weitere Meßapparatur (pH^- , pCO_2 -Widerstandsmessung) ist, wie in Abb. 1 gezeigt, aufgebaut. Die Geschwindigkeit der Saugpumpe, mit der die Meßflüssigkeit durch die Meßapparatur gesaugt wird, ist kontinuierlich verstellbar. Je nach Pumpenvorschub erreicht die Flüssigkeit zu einem unterschiedlichen Zeitpunkt nach Reaktionsbeginn die Meßstellen für R, pH und pCO_2 . Durch die Variation der Pumpengeschwindigkeit kann der Reaktionszeitverlauf bezüglich aller drei Größen mit einer Blutmenge von 100 ml in etwa 6 Minuten untersucht werden.

Die Untersuchung des gesamten Reaktionszeitverlaufs innerhalb dieser Zeit wird möglich durch die Verwendung von Meßsystemen mit kurzer Einstellzeit, da die Bestimmung der Meßwerte bei einer bestimmten Pumpenstellung nur kurze Zeit erfordert.

Die Bestimmung des Zeitpunktes nach Beginn der Reaktion (Reaktionszeit) erfolgt dadurch, daß die Volumina der Meßapparatur von Punkt b bis zu den einzelnen Meßstellen bestimmt wurde. Es sind dies

V_R	=	Volumen vom Punkt b bis zur Mitte der Widerstandsmeßzelle
V_{pH}	=	Volumen von Punkt b bis zur pH-Elektrode
V_{CO_2}	=	Volumen von Punkt b bis zur pCO_2^- Elektrode

Die Reaktionszeit ergibt sich für die Systeme zu

$$T_R = \frac{V_R}{\dot{Q}}, \quad T_{\text{pH}} = \frac{V_{\text{pH}}}{\dot{Q}}, \quad T_{\text{pCO}_2} = \frac{V_{\text{CO}_2}}{\dot{Q}}$$

$\dot{Q}$ = Stromstärke der Meßflüssigkeit

Die Stromstärke der Meßflüssigkeit wird dadurch ermittelt, daß bei jeder Umdrehung der Antriebsachse der Infusionspumpe ein Schalter betätigt wird. Die Zeit zwischen 2 Schaltvorgängen wird in eine analoge elektrische Spannung umgesetzt. Diese Spannung ist umgekehrt proportional zur Stromstärke $\dot{Q}$ der Meßflüssigkeit: Die elektrische Spannung ist damit eine Größe, die proportional ist der Reaktionszeit. Es wird dadurch mit Hilfe eines X-Y-Schreibers die direkte Registrierung von pH, p_{CO_2} oder R als Funktion der Reaktionszeit möglich. Zur Ausmessung² langsamer Vorgänge (Plasma, Blut mit Acetazolamid) konnte ein Zusatzrohr zwischen dem Punkt b und der Eintrittsstelle in die Meßapparatur eingesetzt werden. Die Zeit zwischen Reaktionsbeginn und Meßzeitpunkt verlängert sich dann dementsprechend. Bei der Zeitbestimmung wurde nicht die Zeit berücksichtigt, in der das Blut sich im Rohr zwischen den Punkten a und b befindet (200 msec), da hier die Durchmischung von Blut und CO_2 nicht vollständig ist und somit eine genaue Definition des Reaktionsbeginns nicht möglich ist. Dadurch muß eine gewisse Unsicherheit in der Zeitbestimmung in Kauf genommen werden. Der Versuchsablauf erfolgt so, daß die Meßflüssigkeit nach Vortonometrierung in Spritzen eingefüllt wurde, die in die Infusionspumpe eingesetzt wurden. Die Flüssigkeit wird mit konstanter Geschwindigkeit in die Begasungseinrichtung (Abb.2) gedrückt. Ein Teil der Flüssigkeit wird nach der Begasung durch die Meßapparatur gesaugt. Ausgehend von der höchsten Geschwindigkeit der Saugpumpe wird die Geschwindigkeit langsam verringert und so der Reaktionsverlauf ausgemessen. Die einzelnen Meßgrößen pH, p_{CO_2} und R wurden registriert. Nach einem jeden solchen Versuch wurde zur Kontrolle ein Versuch ohne Begasung durchgeführt. Es zeigt sich, daß sich nach Alterung des Blutes eine Strömungsabhängigkeit des Widerstandes bemerkbar macht. Versuche mit Blutproben, für die eine solche Strömungsabhängigkeit gefunden wurde, wurden nicht ausgewertet.

Bei der Untersuchung von Blut mit Acetazolamid war ein abgeänderter Versuchsablauf erforderlich: Der elektrische Widerstand war aus Gründen, die später zu diskutieren sein werden, zeitlich nicht konstant. Um dennoch eine Aussage über die akute Widerstandsveränderung, die durch die Zugabe von CO_2 bewirkt wird, machen zu können, wurde bei verschiedenen Pumpeneinstellungen

mehrfach die Begasung ein und aus geschaltet, die dabei ausgelöste Widerstandsveränderung wurde gemessen.

2.2.4 Abhängigkeit des Widerstandes vom Hämatokritwert

Die Abhängigkeit des elektrischen Widerstandes vom Hämatokritwert wird dadurch ermittelt, daß eine Blutprobe durch Zugabe von zuvor abzentrifugiertem Plasma in definierter Weise verdünnt wird und der Widerstand für verschiedene Verdünnungen gemessen wird.

2.3 Messungen

2.3.1 pH-Messung

Die pH-Messung erfolgte mit Hilfe einer pH-Glaselektrode mit einem Durchmesser der wasserstoffionenempfindlichen Membran von 2 mm. Die Bezugslektrode war über eine KCl-Brücke mit dem Meßmedium verbunden. Das Volumen der Meßkammer betrug 0,025 ml. Zur Temperaturkonstanthaltung auf 37°C waren beide Elektroden mit einem Wassermantel versehen. Die Eichung erfolgte mit Phosphatpuffern nach SÖRENSEN ($\text{pH}_1 = 6.960$ und $\text{pH}_2 = 7.363$).

2.3.2 pCO_2 -Messung

Die Messung des CO_2 -Partialdruckes wurde mit einer membranbespannten pH-Einstabkette durchgeführt. Eine detaillierte Beschreibung des gesamten CO_2 -Elektrodensystems wird im Kap. 3 gegeben. Zur Eichung der CO_2 -Elektrode wurde eine Lösung (100 ml 1 n NaOH und 50 ml 1n HCl pro Liter Wasser) mit einem drei- und einem achtprozentigen CO_2 -Luft-Gemisch äquilibriert. Diese Lösung nimmt wegen der Bildung von NaHCO_3 aus NaOH und CO_2 eine große CO_2 -Menge auf; sie stellt damit einen CO_2 -Speicher dar.

2.3.3 Messung des elektrischen Widerstandes

2.3.3.1 Allgemeines zum Aufbau der Leitfähigkeitsmeßzelle

Zur Messung der Leitfähigkeit einer Elektrolytlösung wird in der Regel ein Elektrodenpaar aus Edelmetall (Platin) in die Flüssigkeit eingebracht und es wird dann mit Hilfe eines Wechselstromes der Widerstand der Gesamtanordnung bestimmt. Dieser Gesamtwiderstand ist nicht nur bestimmt durch die Elektrolytimpedanz R_E sondern zusätzlich durch die Phasengrenzimpedanz R_p , die an der Übergangsstelle Metall-Elektrolyt sich ausbildet.

Sowohl R_E wie R_p sind im allgemeinen Falle Impedanzen mit einem Ohm'schen und einem kapazitiven Anteil. Die Abschätzung des Einflusses der einzelnen Komponenten erfolgt nach GERISCHER (1953): Die kapazitive Komponente der Elektrolytimpedanz spielt bei niederen bis mittleren Frequenzen keine Rolle; sie ist wesentlich durch die elektrostatische Kapazität der Elektroden zueinander bestimmt.

Die Phasengrenzimpedanz wirkt im Wesentlichen wie ein Kondensator mit einem parallel liegenden Verlustwiderstand. Die Größe dieser Phasengrenzimpedanz hängt im Wesentlichen ab vom Elektrodenmaterial, von der Oberflächenbeschaffenheit der Elektrode und vom Ionisierungsgrad des Meßmediums. Sie ist zeitlich nicht sehr konstant (FREWER, 1972).

Für eine Anordnung mit 2 Elektroden erhält man ein Ersatzschaltbild, wie es Abb. 3 angibt.

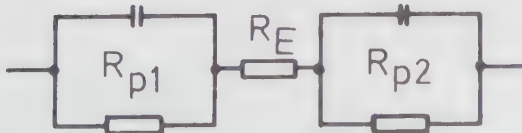


Abb. 3: Ersatzschaltbild einer Meßzelle

R_{p1}, R_{p2} = Phasengrenzimpedanz

R_E = Elektrolytimpedanz

Zur Vermeidung von Fehlmessungen muß bei einer Zweielektrodenanordnung $R_p \ll R_E$ sein. Diese Forderung kann erfüllt werden durch Verwendung hoher Frequenzen (der Spannungsabfall an R_p wird klein) und durch Verwendung großer Elektrodenoberflächen und langer Meßstrecken bei kleinem Querschnitt (R_E wird groß gegenüber R_p).

Strebt man eine Meßkammer mit kleinem Volumen und geringer Länge an, so ist eine andere Methode zur Verringerung des Einflusses der Phasengrenzimpedanz vorteilhaft, nämlich die Verwendung einer Meßzelle mit 4 Elektroden - zwei Elektroden dienen zur Stromeinspeisung und an zwei anderen Elektroden wird der Spannungsabfall bestimmt (Potentialsonden) (KOHLRAUSCH, 1968).

Wird ein Verstärker mit einem hochohmigen Eingangswiderstand verwendet, so wird die Messung des Spannungsabfalls nicht beeinflusst von der Größe der Phasengrenzimpedanz an den Potentialsonden. Bei bekanntem Strom durch den Elektrolyten wird dann der Widerstand errechnet.

2.3.3.2 Aufbau der Widerstandsmeßeinrichtung

In einem Kunststoffstab sind in Abständen von 4 mm vier zylindrische Platinelektroden von jeweils 4 mm Länge angeordnet. Durch eine konzentrische Bohrung mit einem Durchmesser von 0,8 mm wird die Meßflüssigkeit geführt (Abb. 4)

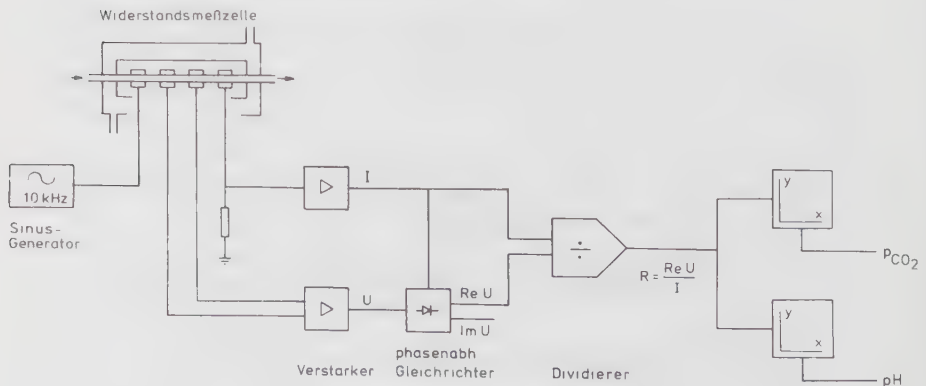


Abb. 4: Aufbau der Widerstandsmeßeinrichtung

Ein 10 KHz-Wechselstrom wird über die beiden äußeren Elektroden eingespeist ($I \approx 45 \mu A$). Gemessen wird der Strom I (als Spannungsabfall an einem Vorwiderstand) und der Spannungsabfall an der Elektrolytstrecke zwischen den beiden mittleren Elektroden. Beide Signale werden verstärkt. In einem phasenabhängigen Gleichrichter wird dann die Spannung zerlegt in einen Anteil, der in Phase ist mit dem Strom ($\text{Re } U$) und in einem Anteil, der um 90° phasenverschoben ist ($\text{Im } U$).

In einer analogen Dividierschaltung wird aus dem Wert für Strom und Spannung der Ohm'sche Widerstand errechnet. Mit Hilfe von X-Y-Schreibern war die direkte Registrierung des Widerstandes als Funktion des pH-Wertes und des CO_2 -Partialdruckes möglich.

Bei allen Versuchen war die Meßzelle durch einen Wassermantel auf 37°C thermostatisiert.

2.3.4 Verwendete Meßverstärker

Die bei der gleichzeitigen Verwendung mehrerer hochohmiger Meßketten (pH-Elektrode, CO_2 -Elektrode) häufig auftretenden Verkopplungen wurden vermieden durch die Verwendung von Verstärkern, bei denen eine galvanische Trennung von Ausgangs- und Eingangsseite mit Hilfe optischer Übertragungssysteme (Optokoppler) erfolgt. (MÜCKENHOFF, LUTTMANN, 1974).

2.3.5 Auswertung des Säuren-Basen-Status

Die Auswertung des Säuren-Basen-Status im steady-state erfolgte unter Benutzung des Nomogramms von SINGER und HASTINGS (1948).

2.4 Rechnerische Verfahren

2.4.1 Fourier-Transformation

Die Umrechnung von Zeitfunktionen in Frequenzfunktionen erfolgt mit Hilfe der Beziehungen für die Fourier-Transformation:

$$X(j\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) e^{-j\omega t} dt$$

$$x(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} X(j\omega) e^{j\omega t} d\omega$$

Diese Transformation erfolgte für Funktionen, bei denen eine analytische Beschreibung möglich ist, nach vorliegenden Rechenregeln (BRONSTEIN, 1956, DOETSCH, 1950, 1955, 1956). Für gemessene Zeitfunktionen und insbesondere gemessene Sprungantwortfunktionen, die in numerischer Form vorliegen, erfolgt die Berechnung mit Hilfe eines von ISERMANN (1971) angegebenen Computerprogramms.

2.4.2 'Peeling-Verfahren'

Die Approximation von gemessenen Zeitverläufen durch eine biexponentielle Zeitfunktion

$$f(t) = A_1 e^{-t/T_1} + A_2 e^{-t/T_2}$$

erfolgte mit Hilfe eines dafür erstellten Computerprogramms nach dem sogenannten 'peeling-Verfahren': Aus den Meßpunkten für große Zeiten wird die größere der beiden Zeitkonstanten und der zugehörige Bewertungsfaktor A ermittelt. Aus der Differenz einer monoexponentiellen Zeitfunktion mit dieser Zeitkonstanten und den Meßpunkten wird die zweite Zeitkonstante mit dem zugehörigen Bewertungsfaktor bestimmt. In einem Iterationsverfahren werden die Parameter A_1 , A_2 und T_1 , T_2 dann so errechnet, daß die Summe der Fehlerquadrate zum Minimum wird.

3. AUFBAU EINES CO_2 -ELEKTRODENSYSTEMS MIT KURZER EINSTELLZEIT UND SEINE ANWENDUNG IN STRÖMENDE GASEN UND FLÜSSIGKEITEN

Zur Messung des Kohlendioxid-Partialdruckes wird eine membranbespannte pH-Elektrode benutzt, die aufgebaut ist nach dem von STOW und RANDALL (1954), STOW, BAER und RANDALL (1957) sowie von GERTZ und LOESCHKE (1958) angegebenen Prinzip. Die wasserstoffionenempfindliche Glasmembran der pH-Elektrode wird mit einem in einer 10^{-3} m NaHCO_3 -Lösung getränkten Gewebspapier von einer Dicke von 40 μ bedeckt und dann mit einer Kunststoffmembran überzogen.

Bei Verwendung von Membranen, die durchlässig sind für Gase, nicht jedoch für andere gelöste Stoffe, einschließlich der Wasserstoffionen, gleicht sich der CO_2 -Partialdruck in der NaHCO_3 -Lösung dem CO_2 -Druck im Außenraum der Elektrode an; der pH-Wert im Elektrolyten und damit die Spannung an der pH-Elektrode stellt sich dann entsprechend der Gleichung

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log (760 [\text{HCO}_3^-] / \alpha') - \log p_{\text{CO}_2}$$

(GERTZ und LOESCHKE, 1958) ein.

Solange man $[\text{HCO}_3^-]$ als konstant ansehen kann, ergibt sich die Elektrodenspannung damit als proportional zu $\log p_{\text{CO}_2}$.

Weiterentwicklungen und Erprobungen dieser Meßmethoden bezüglich solcher Eigenschaften wie Empfindlichkeit, Stabilität und Einstellverhalten sind von SEVERINGHAUS und BRADLEY (1958), GLEICHMANN und LÜBBERS (1960), ARNDT, BRINK, LÜBBERS und MAAS (1965) und weiteren durchgeführt worden. Als wesentlich für die genannten Eigenschaften stellen sich dabei die Zusammensetzung des Elektrolyten vor der Glasmembran, die Dicke und die Materialeigenschaften der Kunststoffmembran und der geometrische Aufbau der Elektrodenanordnung dar.

Durch entsprechende Auswahl dieser Parameter konnte SIESJÖ (1965) eine Elektrode entwickeln, die eine Einstellzeit auf 90 % des Endwertes von etwa 10 sec hatte. Er verwendete dabei eine 10^{-4} m NaHCO_3 -Lösung. Dadurch wird die Elektrode empfindlich gegen Verunreinigung des Elektrolyten.

3.1 Aufbau der Elektrode

In dem von uns verwendeten Meßsystem wird eine pH-Einstab-Glas-elektrode mit flacher Glasmembran mit einem Durchmesser von 5 mm und einem seitlich angeordneten Diaphragma verwendet. Die Stabilisierung der Flüssigkeitsschicht vor der Glasmembran erfolgte mit Hilfe eines $40\text{ }\mu$ starken Gewebspapier, das mit dem Elektrolyten (10^{-3} m NaHCO_3 in bikarbonatfreier Ringerlösung) getränkt war. Die Bespannung erfolgte mit einer $25\text{ }\mu$ starken Silikonmembran. Durch einen Wassermantel wird die Elektrodenanordnung auf 37°C thermostatisiert.

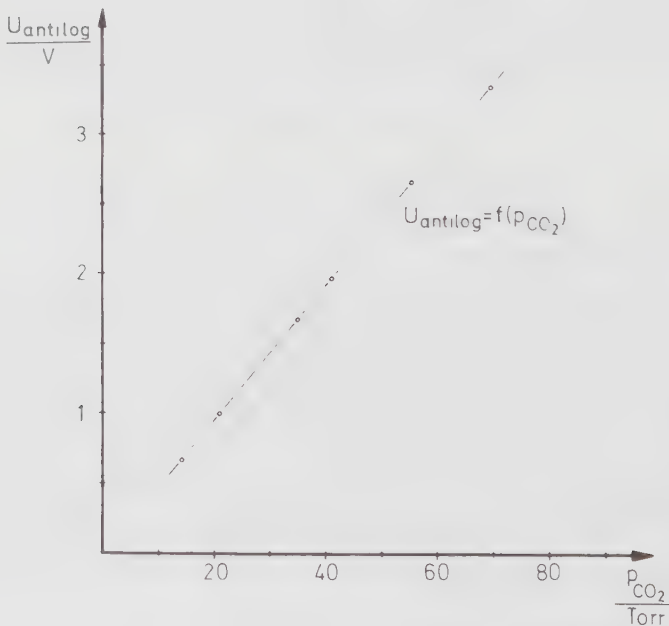


Abb. 5: Eichkurve der CO_2 -Elektrode nach Antilogarithmierung

3.2 Linearisierung der Eichkurve

Der Zusammenhang zwischen der Elektrodenspannung und dem CO_2 -Partialdruck ist logarithmisch. Zur Erzielung einer linearen Eichkurve wird das Elektrodensignal nach Impedanzwandlung und Verstärkung einem Verstärker mit exponentieller Kennlinie zugeführt. Der Zusammenhang zwischen elektrischer Spannung und CO_2 -Partialdruck wird dann linear. Abb. 5 zeigt die Eichkurve.

Die weitere Versuchsanordnung zeigt Abb. 6. Das Elektrodensignal wird nach Impedanzwandlung und Verstärkung delogarithmiert. Danach wird ein System zur Entzerrung des Frequenzganges nachgeschaltet. Der Aufbau dieses Entzerrungssystems wird in Kap. 3.4 behandelt werden.

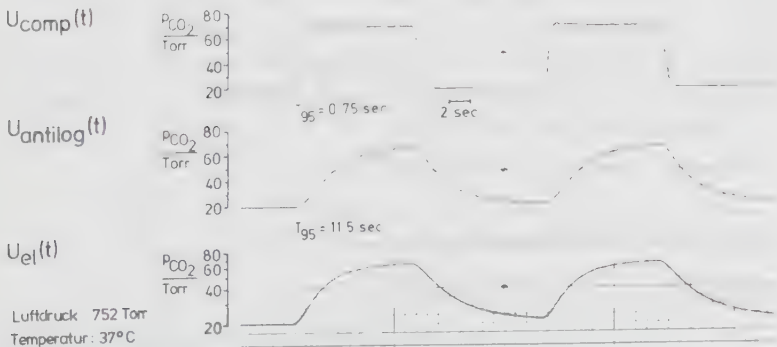
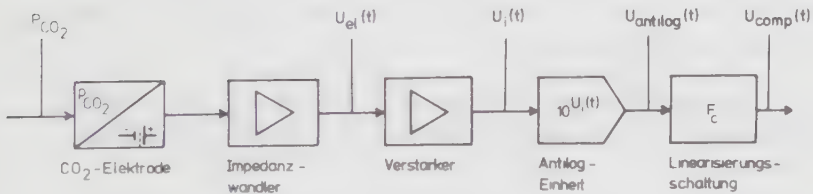


Abb. 6: Versuchsanordnung und Originalregistrierungen

Im Beispiel der Abb. 6 wurden auf einem Vielschreiber registriert: Das Elektrodensignal $U_{el}(t)$, das delogarithmierte Signal $U_{antilog}(t)$, und das Ausgangssignal der gesamten Anordnung $U_{comp}(t)$.

3.3 Untersuchung des Einstellverhaltens in Gas

Für verschiedene Membranmaterialien und -dicken (Teflon 3 μ , 12 μ , 50 μ , Silikon 25 μ) und für verschiedene Schichtdicken für die NaHCO_3 -Lösung (40 μ , 80 μ) wurden die Einstellzeitfunktionen ermittelt. Eine Einstellzeit auf 95 % des Endwertes von 11,5 sec konnte erzielt werden für eine Silikonmembran von 25 μ Dicke und für eine Schichtdicke von 40 μ für eine 10^{-3} m NaHCO_3 -Lösung. Bei Verwendung dieser Daten war die Stabilität der Elektrode sowohl bezüglich ihres mechanischen Aufbaus wie auch bezüglich der elektrischen Stabilität ausreichend.

Durch die Anwendung der Schaltung zur Frequenzganglinearisierung wird die Einstellzeit von $T_{95} = 11,5$ sec auf $T_{95} = 750$ msec verringert.

Als weitere Maßnahme zur Reduzierung der Einstellzeit wurde der NaHCO_3 -Lösung Kohlendensäureanhydratase ($0,05 \text{ g l}^{-1}$) zugegeben, um dadurch die für den langsamen Einstellvorgang wesentlich mitverantwortliche Hydratisierungsreaktion des Kohlendioxids zu beschleunigen. Die gleichzeitige Anwendung der Kohlendensäureanhydratase und der Frequenzganglinearisierung verringert die Einstellzeit auf 200 msec (Abb. 7).

3.4 Entzerrung des Frequenzganges

3.4.1 Prinzip

Die Darstellung der Anforderungen, die an die Entzerrungsschaltung gestellt werden, erfolgt zweckmäßigerweise im Frequenzbereich. Der Zusammenhang zwischen einer Zeitfunktion $x(t)$ und der zugehörigen komplexen Frequenzfunktion $X(j\omega)$ wird gefunden durch die Fourier-Transformation (s. Methodik Kap. 2.4.1)

CO₂-Elektrode

Kohlensäureanhydratase 0,05 g l⁻¹

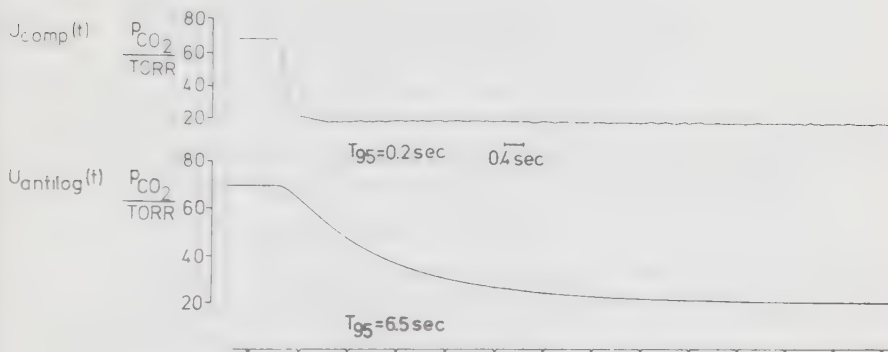


Abb. 7: Einstellverhalten einer Elektrode mit Kohlensäureanhydratase

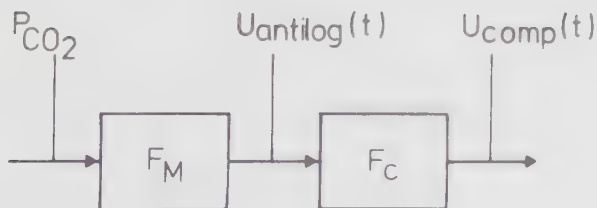


Abb. 8: Blockschaltbild der gesamten Anordnung

Für die folgenden Berechnungen wird das gesamte Elektrodensystem zu 2 Übertragungssystemen zusammengefaßt (Abb. 8).

- a) Elektrode mit nachgeschaltetem Verstärker und Antilogarithmiereinheit (F_M)
- b) Frequenzgangentzerrungsschaltung (F_c).

Für diese beiden Einheiten ergibt sich der Frequenzgang jeweils als Quotient aus Ausgangsgröße und Eingangsgröße

$$\text{zu a)} \quad F_M(j\omega) = \frac{U_{\text{antilog}}(j\omega)}{P_{\text{CO}_2}(j\omega)}$$

$$\text{zu b)} \quad F_c(j\omega) = \frac{U_{\text{comp}}(j\omega)}{U_{\text{antilog}}(j\omega)}$$

Für das Gesamtsystem gilt dann:

$$U_{\text{comp}}(j\omega) = P_{\text{CO}_2}(j\omega) \cdot F_M(j\omega) \cdot F_c(j\omega)$$

Wird die Entzerrungsschaltung so aufgebaut, daß in einem möglichst breiten Frequenzband

$$F_c(j\omega) = \frac{K}{F_M(j\omega)} \quad (A)$$

wird, so ist

$$U_{\text{comp}}(j\omega) = K \cdot P_{\text{CO}_2}(j\omega)$$

K = Konstante

In diesem Falle wird $U_{\text{comp}}(j\omega)$ und damit auch $u_{\text{comp}}(t)$ proportional zur Meßgröße $P_{\text{CO}_2}(j\omega)$ bzw. $p_{\text{CO}_2}(t)$. Zur Erzielung eines solchen linearen Zusammenhanges ist es also erforderlich, eine Entzerrungsschaltung aufzubauen, deren Frequenzgang invers ist zum Frequenzgang des Meßsystems.

Je größer der Frequenzbereich ist, in dem der Gesamtfrequenzgang auf diese Weise linearisiert wird, umso weniger verzerrt wird das Ausgangssignal gegenüber dem CO_2 -Partialdruck sein.

Abbildung 9 zeigt eine Schaltung, die die Inversion des Frequenzganges F_M durchführt: In den Gegenkopplungsweig eines Verstärkers mit hohem Verstärkungsgrad ist das Übertragungssystem mit dem Frequenzgang F'_M eingeschaltet. Für diese Schaltung gilt

$$F_c(j\omega) = \frac{U_{\text{comp}}(j\omega)}{U_{\text{antilog}}(j\omega)} = \frac{V}{1 + V \cdot F'_M}$$

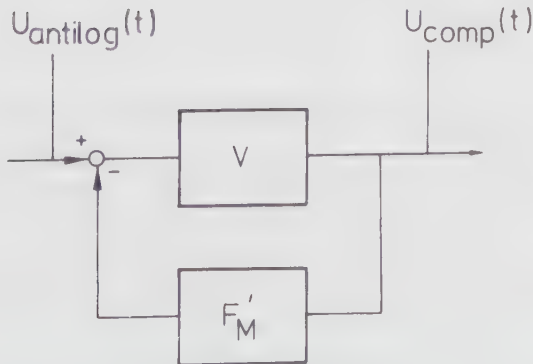


Abb. 9: Blockschaltbild der Entzerrungsschaltung

$$F_c(j\omega) = \frac{1}{1/V + F_M'}$$

Ist der Verstärkungsgrad V genügend groß, (der hier verwendete Verstärker hat einen Verstärkungsgrad von etwa 10^5), so wird

$$F_c(j\omega) = \frac{1}{F_M'}$$

Wird das Netzwerk im Gegenkopplungsweig so dimensioniert, daß sein Frequenzgang F_M' gleich dem Frequenzgang $F_M(j\omega)$ des Meßsystems ist, so gilt:

$$F_c(j\omega) = \frac{1}{F_M(j\omega)}$$

Die Forderung (A) ist dann erfüllt; das Ausgangssignal der Gesamtordnung entspricht dann in seinem zeitlichen Verlauf dem Zeitverlauf der zu messenden Größe.

Um den Frequenzgang in einen möglichst weiten Frequenzbereich zu linearisieren und damit die Einstellzeit zu verkürzen, muß eine Schaltung erstellt werden, deren dynamische Eigenschaften denen der Elektrode entsprechen; das Zeitverhalten der Elektrode wird in einem elektrischen Netzwerk simuliert.

3.4.2 Analyse des Einstellverhaltens und struktureller Aufbau eines Modellsystems

Um ein Netzwerk erstellen zu können, dessen Zeitverhalten dem der Elektrode möglichst gut entspricht, ist es erforderlich das Zeitverhalten der Elektrode selbst zu analysieren und zu beschreiben: Es muß ein Modell für das dynamische Verhalten der Elektrode entwickelt werden:

Dieses Verhalten der Elektrode wird bestimmt durch:

1. Diffusion des CO_2
2. Hydratisierungsreaktion des CO_2
3. Diffusion der Kohlensäure
4. Diffusion der Dissoziationsprodukte der Kohlensäure: HCO_3^- und H^+ .

Die Diffusionsprozesse sind beschreibbar durch partielle Differentialgleichungen unter Verwendung der entsprechenden stoffabhängigen Konstanten wie Diffusionskoeffizienten, Diffusionsleitfähigkeiten und Löslichkeiten. Analoge elektrische Größen zu diesen Parametern sind spezifische Leitfähigkeit und spezifische (auf die Volumeneinheit bezogene) Kapazität. Zur vollständigen Beschreibung des Zustandes eines Diffusionssystems durch eine elektrische Analogieschaltung wird theoretisch ein elektrisches Netzwerk mit unendlich vielen Einzelgliedern benötigt (NIESEL und THEWS, 1959). Eine exakte Simulation erfordert für jedes Volumenelement ein Analogiesystem.

Für die Verwendung in einem Elektroden-System ist eine solche Simulation zu aufwendig, es kann demzufolge nur eine näherungsweise Beschreibung angestrebt werden, wobei mit einer möglichst geringen Zahl von Einzelelementen das Elektrodenverhalten beschrieben werden soll. Für den Aufbau der Simulationsschaltung wird also nicht von der Beschreibung der physikalischen Realität durch ein Differentialgleichungssystem ausgegangen. Es wird stattdessen aus der Analyse der Sprungantwortfunktion ein Modell zur Beschreibung des Elektrodenverhaltens gewonnen.

Dieses Modell sollte eine Zusammenschaltung einfacher Grundelemente (Verzögerungsglieder 1. Ordnung) sein, da dann das Simulationsnetzwerk ebenfalls aus einfachen Elementen (R-C-Gliedern) bestehen kann.

In einem ersten Schritt soll der strukturelle Aufbau eines solchen einfachen Modellsystems gewonnen werden. Die Größe der einzelnen Parameter (Zeitkonstanten, Amplitudenübertragungsfaktoren) wird dann in einem Einstellverfahren, das später beschrieben wird, ermittelt. Wird die Sprungantwortfunktion der Elektrode nach Delogarithmierung und Normierung halblogarithmisch dargestellt (Abb. 10) so ergibt sich ein zweifach geknickter Funktionsverlauf. Diese Tatsache deutet daraufhin, daß für die Beschreibung des zeitlichen Ablaufs mindestens 3 Zeitkonstanten erforderlich sind.

Eine Modellannahme für die Elektrode geht deswegen von drei Verzögerungsgliedern 1. Ordnung aus. Den Aufbau eines solchen Modelles

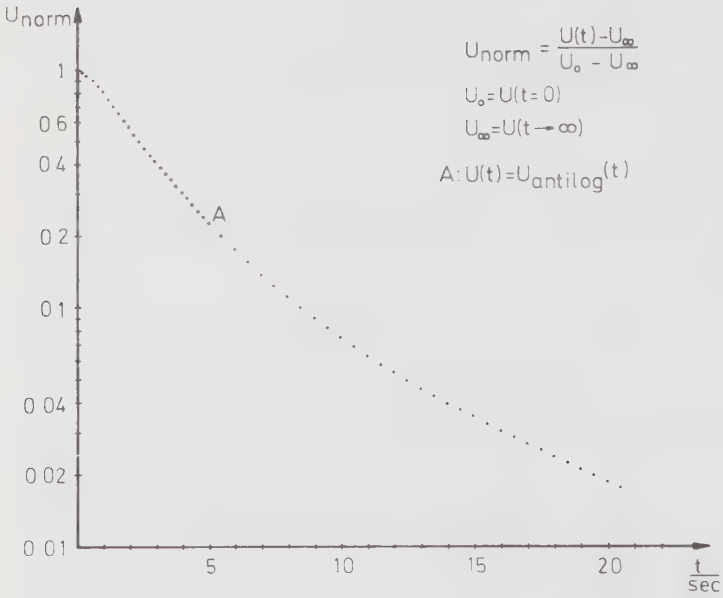


Abb. 10: Sprungantwortfunktion der Elektrode (normiert, halb-logarithmisch dargestellt).

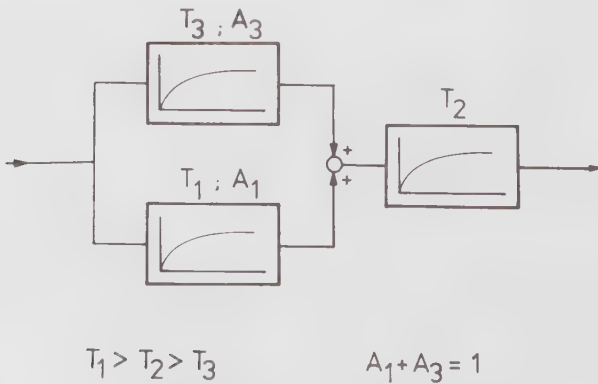


Abb. 11: Modellannahme für die Elektrode

zeigt Abbildung 11. Es besteht aus zwei parallelgeschalteten Verzögerungsgliedern mit den Zeitkonstanten T_1 und T_3 und den Amplitudenübertragungsfaktoren A_1 und A_3 und einem weiteren in Serie geschalteten Verzögerungsglied mit der Zeitkonstanten T_2 .

Für eine solche Schaltung ergibt sich der Frequenzgang in folgender Weise:

$$F_M(j\omega) = \left(\frac{A_1}{1 + j\omega T_1} + \frac{A_3}{1 + j\omega T_3} \right) \cdot \frac{1}{1 + j\omega T_2} = \frac{1 + j\omega \theta}{(1 + j\omega T_1)(1 + j\omega T_2)(1 + j\omega T_3)} \quad (B)$$

$$\text{mit } \theta = A_1 T_3 + A_3 T_1$$

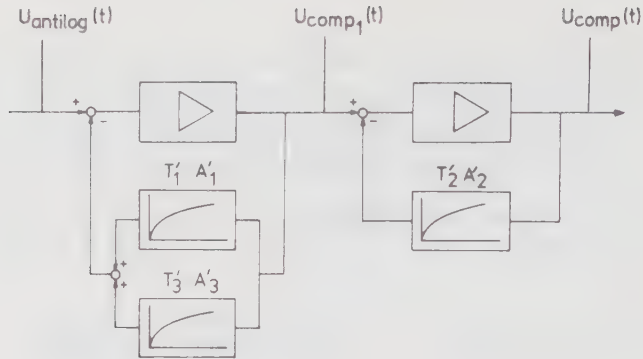
(PD-Glied mit Verzögerung 3. Ordnung)

3.4.3 Aufbau der Entzerrungsschaltung

Der Aufbau der Entzerrungsschaltung erfolgt, wie in 3.4.1 gefordert, dadurch, daß eine Simulationsschaltung entsprechend der obigen Modellannahme in den negativen Rückkopplungskreis eines Verstärkers eingebaut wird. Dabei erfolgt der Aufbau in zwei Stufen (Abb. 12). In der ersten Kompensationsstufe wird die Parallelschaltung zweier Verzögerungsglieder simuliert. In Serie geschaltet ist eine weitere Stufe mit einem Verzögerungsglied 1. Ordnung.

Durch den zweistufigen Aufbau wird ein schrittweiser Abgleich der einzelnen Parameter möglich. Außerdem gewährleistet dieser Aufbau eine hinreichende Schwingsicherheit.

Abbildung 13 zeigt detailliertere Angaben über den Aufbau der Entzerrungsschaltung. Die Verzögerungsglieder werden durch RC-Glieder realisiert, denen zur Entkopplung jeweils Impedanzwandler



$$U_{comp1}(j\omega) = \frac{(1+j\omega T_1)(1+j\omega T_3)}{1+j\omega\theta'} U_{antilog}(j\omega)$$

$$A'_1 + A'_3 = 1$$

$$U_{comp}(j\omega) = (1+j\omega T_2) \cdot U_{comp1}(j\omega)$$

$$A'_2 = 1$$

$$\theta' = A'_1 T'_3 + A'_3 T'_1$$

Abb. 12: Schematische Darstellung des Aufbaus der Entzerrungsschaltung. Die Entzerrung erfolgt in zwei Stufen:
a) Simulation zweier parallelgeschalteter Verzögerungsglieder (T'_1, A'_1 und T'_3, A'_3)
b) Simulation eines weiteren in Serie geschalteten Verzögerungsgliedes (T'_2, A'_2).

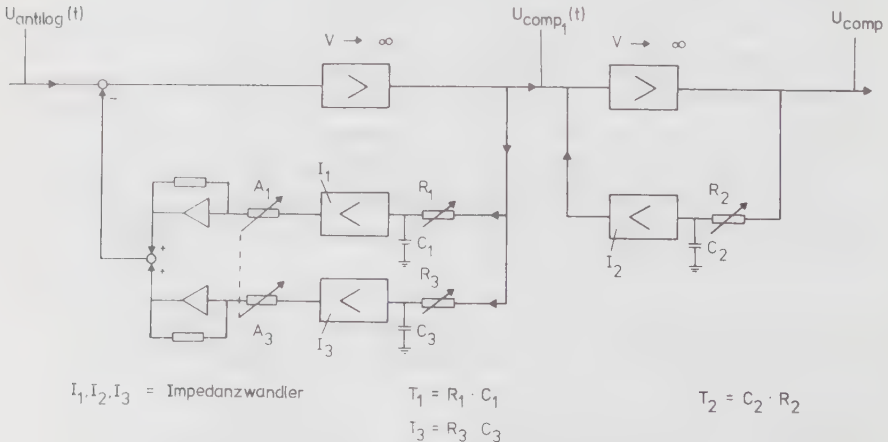


Abb. 13: Aufbau der Entzerrungsschaltung: Die Realisierung der Verzögerungsglieder erfolgt durch RC-Glieder. Der Widerstand (R_1, R_2, R_3) ist jeweils variabel. Die Entkopplung erfolgt über Impedanzwandler (I_1, I_2, I_3). Der Verstärkungsgrad A'_1 und A'_3 wird mit einem Doppelpotentiometer so eingestellt, daß der Gesamtverstärkungsgrad konstant ist.

nachgeschaltet sind. Der Widerstand ist dabei jeweils variabel, damit die Zeitkonstante $T = R \cdot C$ einstellbar ist. Der Verstärkungsgrad A'_1 bzw. A'_3 in der Rückkopplung der 1. Kompensationsstufe ist ebenfalls variabel. Mit Hilfe eines Doppelpotentiometers werden die Verstärkungsgrade so eingestellt, daß der Gesamtverstärkungsgrad der Rückkopplung 1 ergibt, also

$$A'_1 + A'_3 = 1$$

Der Gesamtverstärkungsgrad der Schaltung ist dann unabhängig von der Einstellung von A'_1 bzw. A'_3 .

3.4.4 Abgleichverfahren

Das Ziel des Abgleichverfahrens ist es, die Parameter in der Simulationsschaltung (T'_1 , T'_2 , T'_3 , θ) so einzustellen, daß die Ausgangsfunktion der Gesamtanordnung möglichst gut dem Zeitverlauf einer bekannten Eingangsfunktion, also einem bekannten CO_2 -Partialdruckverlauf folgt. Die Parameter in der Simulationsschaltung haben dann die gleiche Größe wie die entsprechenden Parameter der Elektrode. Man erhält also durch das Abgleichverfahren auch Kenntnis über die Größe der das dynamische Verhalten bestimmenden Parameter.

Das Abgleichverfahren wurde entwickelt für sprungförmige Veränderungen des p_{CO_2} . Der Abgleich geschieht dadurch, daß nacheinander die einzelnen Parameter abgestuft nach ihrer Größe ($T_1 > \theta > T_2 > T_3$) eingestellt werden, und daß dabei die Ausgangsfunktion schrittweise einer Sprungfunktion angenähert wird.

Der Abgleichvorgang erfolgt zunächst für die erste Kompensationsstufe, indem T'_1 und A'_1 bzw. A'_3 solange geändert werden, bis bei einer sprungförmigen Veränderung des p_{CO_2} das Ausgangssignal den neuen Wert möglichst schnell erreicht, ohne dabei überzuschwingen. Abbildung 14 zeigt den Verlauf der Ausgangsfunktion bei verschiedener Einstellung (a überschwingend, b richtig, c unterschwingend). Die dargestellten Funktionen wurden entsprechenden Originalregistrierungen nachgezeichnet.

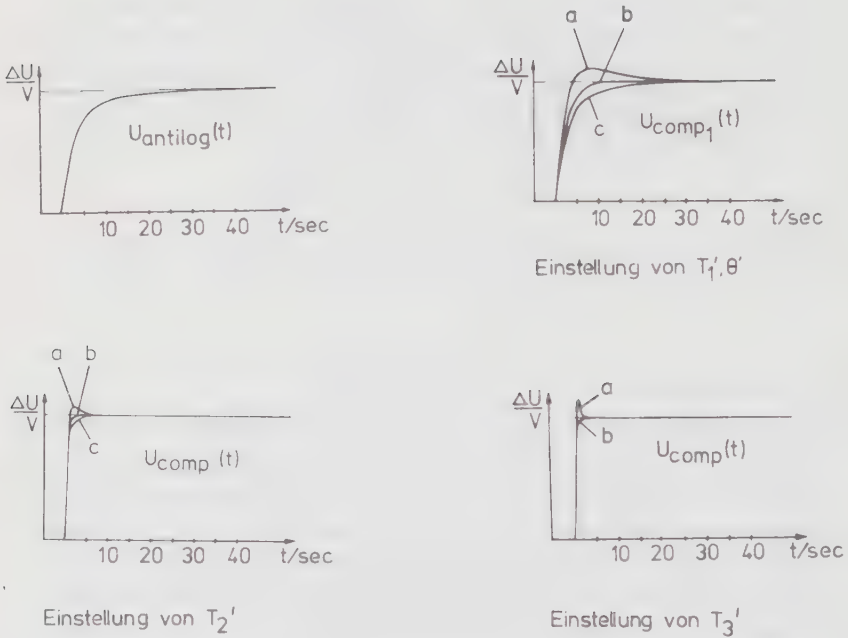


Abb. 14: Zeitverläufe an verschiedenen Stellen der Entzerrungsschaltung nach sprungförmiger Veränderung des p_{CO_2} vor der Elektrode bei jeweils verschiedenen Parametereinstellungen:

- a) überschwingend
- b) richtig
- c) unterschwingend

Die Zeitverläufe sind entsprechenden Originalregistrierungen, die während des Abgleichvorganges aufgenommen wurden, nachgezeichnet.

Der weitere Abgleich geschieht dadurch, daß der Zeitverlauf der Ausgangsspannung der 2. Stufe zunächst durch Einstellung von T_2' und dann durch Einstellung von T_3' für immer kürzere Zeiten der Sprungfunktion angepaßt wird. Auch hier zeigt Abbildung 14 die entsprechenden Signalverläufe bei verschiedener Einstellung der Zeitkonstanten.

3.5 Untersuchungen zum dynamischen Verhalten in strömenden Flüssigkeiten

Um zu überprüfen, inwiefern das CO_2 -Elektroden-System auch geeignet ist, zeitlich sich ändernde CO_2 -Partialdrucke in strömenden Flüssigkeiten zu messen, da sich in diesem Falle vor der Elektrode eine Grenzschicht ausbildet, die als Diffusionshindernis wirkt, waren zusätzliche Versuche notwendig.

3.5.1 Versuchsaufbau

In zwei Behältern wurde Flüssigkeit mit CO_2 -Luftgemischen unterschiedlicher Zusammensetzung äquilibriert

$$(F_{\text{CO}_2 1} = 0,03 ; F_{\text{CO}_2 2} = 0,10) \text{ (s. Abb. 15).}$$

Durch Zusatz von Methylenblau war eine der Lösungen angefärbt.

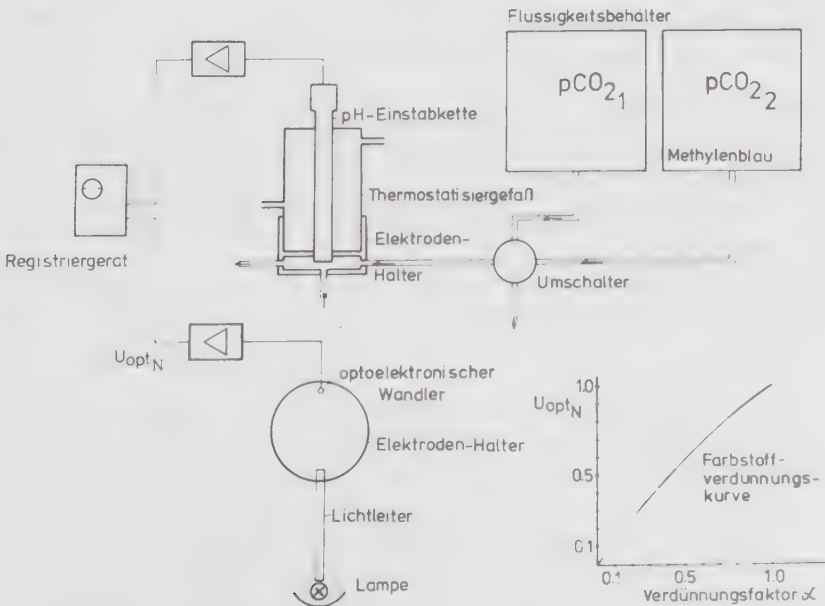


Abb. 15: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus zur Untersuchung des dynamischen Verhaltens der CO_2 -Elektrode in strömenden Flüssigkeiten.

Mit einem Umschalter konnten die beiden Lösungen nacheinander an der Elektrode vorbei geführt werden. Die Zuführung der Flüssigkeit konnte dabei seitlich erfolgen - die Strömungsrichtung ist dann parallel zur Elektrodenoberfläche gerichtet - oder aber senkrecht von unten.

Im unteren Teil der Abbildung 15 sieht man eine schematische Darstellung der Meßkammer von unten. Über einen Lichtleiter wird das Innere der Kammer beleuchtet. Mit Hilfe eines auf der Gegenseite angebrachten optoelektronischen Wandlers kann dann ein elektrisches Signal gewonnen werden, aus dem der Auswaschvorgang der weißen bzw. der blauen Lösung jeweils bestimmt werden kann. Bei Kenntnis des Zusammenhanges zwischen dem elektrischen Signal des optoelektronischen Wandlers und dem Verdünnungsfaktor - er ist durch die angegebene Farbstoffverdünnungskurve wiedergegeben - wird dann aus dem Zeitverlauf der Mischung auf den Zeitverlauf des Gaspartialdruckes vor der Elektrode, d.h. vor der sich ausbildenden Grenzschicht, geschlossen.

Man erhält also damit neben der Messung des Partialdruckes mit der Elektrode durch das optische Verfahren eine zweite unabhängige Messung des Partialdruckes in der Meßkammer. Dadurch wird es möglich, den Einfluß der Grenzschicht auf das Einstellverhalten zu untersuchen.

4. ERGEBNISSE

4.1 Ergebnis der Frequenzganglinearisierung

4.1.1 Ergebnisse der Messungen in gasförmigen Medien und Vergleich mit Modellberechnungen

Durch das Verfahren der Frequenzganglinearisierung verringert sich bei Messungen in Gas die Einstellzeit auf 95 % des Endwertes bei einer Elektrode ohne Kohlensäureanhydratase von 6.5 sec auf 200 msec. Die entsprechenden Originalregistrierungen zeigen Abbildung 6 und Abbildung 7.

Beim Aufbau der Linearisierungsschaltung wurde von einer Annahme für den strukturellen Aufbau eines Modells zur Beschreibung des Elektrodenverhaltens ausgegangen. Die Zahlenwerte für die Parameter dieses Modells wurden durch das Abgleichverfahren ermittelt. Um zu prüfen, ob diese Modellvorstellung das dynamische Verhalten der Elektrode hinreichend gut beschreibt, wurde der Frequenzgang für die Elektrode auf zweierlei Weise bestimmt:

1. Aus der gemessenen Sprungantwortfunktion des antilogarithmierten Elektrodensignals wurde durch Fourier-Transformation mit Hilfe eines numerischen Verfahrens (Programm von Isermann, 1971) der Frequenzgang (Amplitudengang und Phasengang) errechnet.
2. Aus Gleichung (B) (Kap. 3.4.2) wird unter Verwendung der durch das Abgleichverfahren ermittelten Zeitkonstanten ebenfalls der Frequenzgang berechnet.

In Abbildung 16 sind diese Ergebnisse gegenübergestellt: Die einzelnen Meßpunkte geben das Ergebnis der 1. Rechnung, die durchgezogene Kurve zeigt das Resultat der 2. Rechnung. Der Vergleich der beiden Rechnungen zeigt eine zufriedenstellende Übereinstimmung. Das Elektrodenverhalten wird also durch die zugrunde gelegten Modellannahmen hinreichend gut beschrieben, obwohl die Modellannahme von diskreten zeitbestimmenden Elementen ausgeht, während die Elektrode wegen der Vorgänge der Diffusion und chem. Reaktion ein System mit kontinuierlich verteilten

Parametern darstellt. Die Modellannahme mit diskreten Elementen ist demzufolge eine gute Näherung, die das Zeitverhalten der Elektroden hinreichend gut beschreibt.

In Abbildung 16 ist weiterhin eingetragen der Frequenzgang des Systems nach Kompensation (gestrichelte Linie). Die Grenzfrequenz f_g , also die Frequenz, bei der die Amplitude um 3 dB abgefallen ist, erhöht sich auf das Zehnfache von $f_g = 0,05$ Hz auf 0,5 Hz.

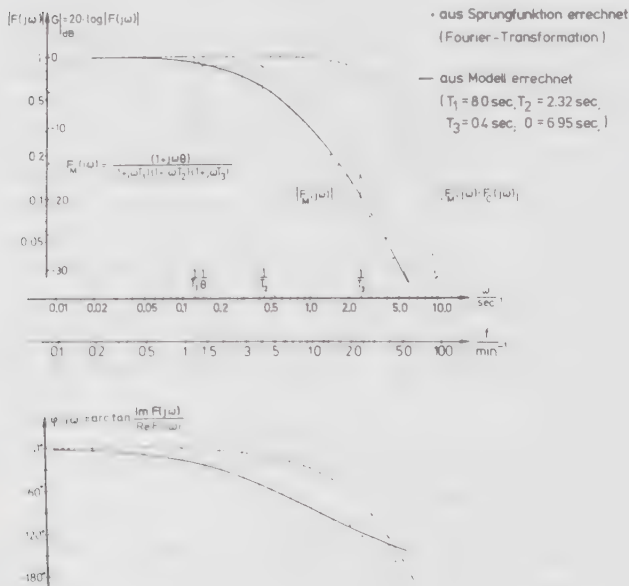


Abb. 16: Oberes Diagramm Amplitudengang

Unteres Diagramm Phasengang einer Elektrode ohne Kohlensäureanhydratase

Ergebnisse aus der Messung = Punkte

Ergebnisse aus der Modellannahme = durchgezogene Linie

Amplituden- und Phasengang des Gesamtsystems nach Frequenzganglinearisierung = gestrichelte Linie

Abbildung 17 gibt den Amplitudengang einer Elektrode wieder, bei der die Einstellzeit verkürzt wurde durch den Zusatz von Kohlen- säureanhydratase ($0,05 \text{ g l}^{-1}$) und durch Anwendung der Frequenz- gangentzerrung. Die Grenzfrequenz erhöht sich auf $f_g = 2 \text{ Hz}$.

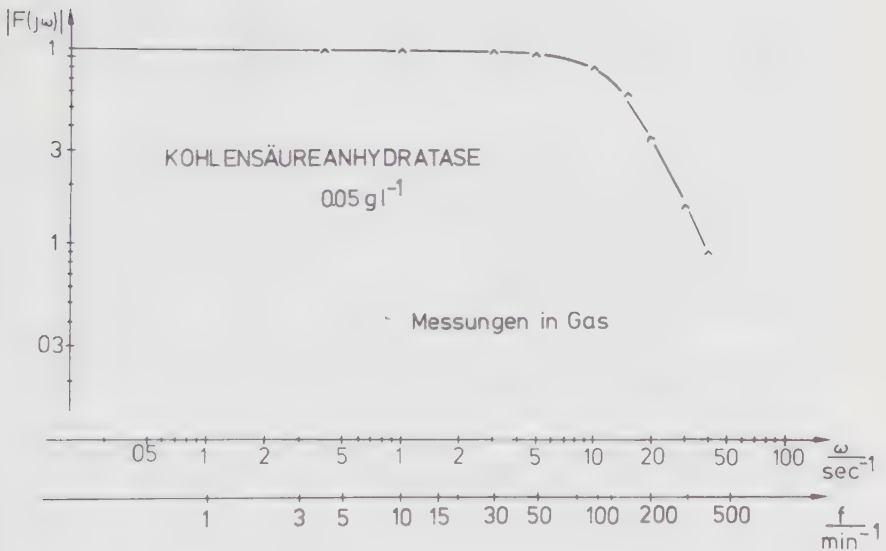


Abb. 17: Amplitudengang einer Elektrode mit Kohlen- säureanhydratase nach Frequenzganglinearisierung.

4.1.2 Ergebnisse der Messungen in flüssigen Medien und Vergleich mit Modellberechnungen

Abbildung 18 zeigt für verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten die Ergebnisse von Messungen in strömender Flüssigkeit mit Strö- mungsrichtung parallel zur Elektrodenoberfläche.

Die Meßpunkte geben im oberen Diagramm das Ergebnis der photome- trischen und im unteren Diagramm das Ergebnis der Messung mit der Elektrode wieder. Auf Grund der Wirkung der Grenzschicht ist das

Elektrodensignal verzögert gegenüber dem der optischen Messung. Die Grenzschicht stellt ein Diffusionshindernis dar.

Die durchgezogenen Linien sind das Ergebnis einer rechnerischen Behandlung des Problems:

Das Ziel dieser Rechnung ist es, den CO_2 -Partialdruck am Orte der Glasmembran mit Hilfe des 2. Fick'schen Gesetzes zu bestimmen und die Ergebnisse der Rechnung dann mit den Meßergebnissen zu vergleichen. Dieser Vergleich dient dazu, die Modellvorstellungen und Vereinfachungen, die nötig sind, um die Differentialgleichung des 2. Fick'schen Gesetzes zu lösen, auf ihre Zulässigkeit zu überprüfen.

Den geometrischen Aufbau zeigt der obere Teil der Abbildung 18. Die Strömung ist parallel zur Oberfläche der Elektrode gerichtet. Es wird angenommen, daß das CO_2 nur durch Diffusion durch die Grenzschicht, durch die Silikonmembran und durch den Natriumbi-karbonatlösungsraum hindurchtreten kann.

Die Dicke der Grenzschicht wird nach einer von SCHULER und KREUZER (1967) angegebenen Gleichung errechnet.

$$\bar{\delta} = 1,5 \left(\frac{\mu^*}{D} \right)^{1/6} \cdot \sqrt{\frac{D \cdot d}{v}}$$

$\bar{\delta}$ = Grenzschichtdicke

μ^* = kinematische Viskosität

D = Diffusionskoeffizient

d = Elektrodendurchmesser

v = Strömungsgeschwindigkeit.

Diese Autoren haben die angegebene Gleichung benutzt für Untersuchungen an polarographischen O_2 -Elektroden mit einem maximalen Durchmesser von 300 μ . Ob die Gleichung auch verwendbar ist für Elektroden mit einem Durchmesser von 5 mm ist an Hand der Resultate von Rechnung und Messung zu überprüfen.

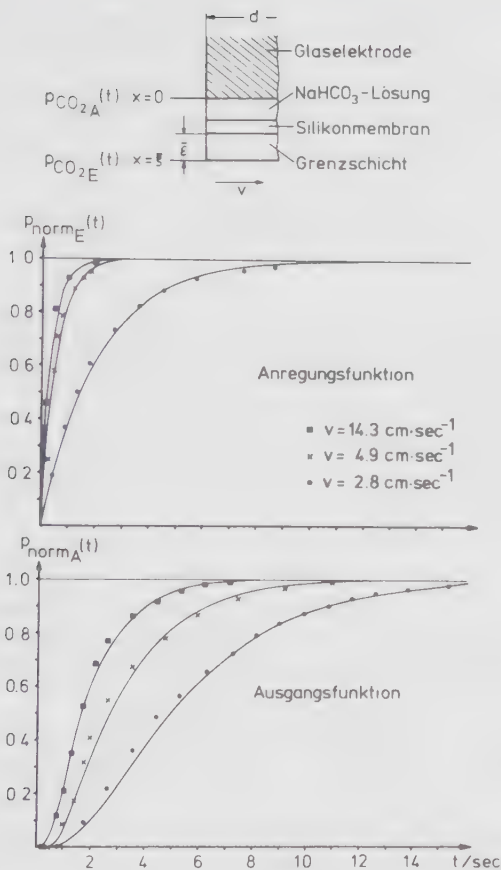


Abb. 18: Normierter p_{CO_2} -Verlauf, bestimmt mit dem photometrischen Verfahren (oberes Diagramm) und der Elektrode (unteres Diagramm).

Punkte: Ergebnisse der Messung
 Durchgezogene Linie: Ergebnisse der Rechnung
 Oberer Teil der Abbildung: Modellannahmen zur Berechnung
 des Übertragungsverhaltens der Grenzschicht.

Für die Lösung des 2. Fick'schen Gesetzes wird angenommen, daß die Diffusion nur senkrecht zur Elektrodenoberfläche erfolgt. Das Diffusionsmedium wird als homogen angenommen, d.h. es wird für die Silikonmembran der gleiche Diffusionskoeffizient angenommen wie für Wasser ($D = 3,13 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$) (GERTZ und LOESCHCKE, 1955). Inwieweit durch diese Annahme Fehler auftreten, kann nur geschätzt werden, da für Silikon nur die Diffusionsleitfähigkeit ($K_{\text{Si}} = 1,39 \cdot 10^{-3} \text{ ml CO}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$ bei 25°C) bekannt ist (Angaben Dow Corning Corp.), nicht jedoch der Diffusionskoeffizient.

Die Diffusionsleitfähigkeit unterscheidet sich nur wenig von der des Wassers ($K_{\text{H}_2\text{O}} = 1,13 \cdot 10^{-3} \text{ ml CO}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$ bei 23°C). Nimmt man an, daß die Löslichkeit des CO_2 in Silikon und in Wasser in der gleichen Größenordnung liegen, so werden auch die Diffusionskoeffizienten wegen der Beziehung $D = K/\alpha$ einander ähnlich sein.

Der Fehler, der durch diese Annahme entsteht, wird für höhere Strömungsgeschwindigkeiten größer sein, als für niedrige, da der Anteil des Silikon an der Gesamtschichtdicke wegen der abnehmenden Grenzschichtdicke bei steigender Geschwindigkeit zunimmt.

Tabelle 1 zeigt die geometrischen Abmessungen der einzelnen Schichten:

Grenzschicht	$\bar{e} = 87 \mu$	bei $v = 2,8 \text{ cm/sec}$
	$\bar{e} = 66 \mu$	bei $v = 4,9 \text{ cm/sec}$
	$\bar{e} = 39 \mu$	bei $v = 14,3 \text{ cm/sec}$
Silikonmembran	$e_{\text{Si}} = 25 \mu$	
NaHCO_3 -Schicht	$e_{\text{B}} = 40 \mu$	

Tabelle 1: Vergleich der einzelnen Schichtdicken bei verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten.

Der Zeitverlauf des Partialdruckes vor der Grenzschicht läßt sich wie Abbildung 18 (oberes Diagramm) zeigt, durch eine monoexponentielle Funktion beschreiben (durchgezogene Linie).

$$p_{\text{norm}}(t) = \frac{p_{\text{CO}_2\text{E}}}{\Delta p_{\text{CO}_2}} = (1 - e^{-\beta t})$$

$$\beta = f(v)$$

$$\Delta p_{\text{CO}_2} = p_{\text{CO}_2\infty} - p_{\text{CO}_2 0}$$

CRANK (1956) gibt die Lösung des 2. Fick'schen Gesetztes an für das Innere einer unendlich ausgedehnten Schicht der Dicke 2ξ , an deren beiden Außenseiten sich der Partialdruck zum Zeitpunkt $t = 0$ nach einer monoexponentiellen Zeitfunktion

$$p_{\text{CO}_2} = \Delta p_{\text{CO}_2} (1 - e^{-\beta t})$$

ändert. Diese Lösung ist auf das hier vorliegende Problem übertragbar:

Die Zeitfunktion, nach der sich die Schicht mit CO_2 auffüllt, wird in beiden Fällen die gleiche sein, da bei dem Ansatz von CRANK in der Mitte der Schicht der Diffusionsstrom aus Symmetriegründen zu 0 wird - die Schicht sättigt sich von beiden Seiten in gleicher Weise auf. Bei dem hier vorliegenden Fall wird der Diffusionsstrom am Orte $x = 0$ ebenfalls zu 0, da man die Glasmembran als nicht durchlässig für CO_2 annehmen muß. Der Partialdruck vor der Grenzschicht ($x = \xi$) ändert sich ebenfalls nach einer monoexponentiellen Funktion, wie die photometrische Messung zeigt. Die Lösung der Differentialgleichung ergibt sich dann für die Stelle $x = 0$ zu:

$$p_{\text{norm}_A}(t) = \frac{p_{\text{CO}_2 A}}{\Delta p_{\text{CO}_2}}$$

$$F_{\text{norm}_A}(t) = 1 - e^{-3t} \cdot \frac{1}{\cos[\xi (\beta/D)^{1/2}]} - \frac{16 \beta \xi^2}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n e^{-\frac{D(2n+1)^2 \pi^2}{4 \xi^2} t}}{(2n+1) [4 \beta l^2 - D \pi^2 (2n+1)^2]}$$

Die Übereinstimmung der auf diese Weise gewonnenen Ausgangsfunktionen mit den mit der CO_2 -Elektrode gemessenen Zeitverläufen ist zufriedenstellend (Abb. 18, unteres Diagramm). Damit zeigt sich, daß die Modellvorstellungen, die diesen Rechnungen zugrunde liegen, das Verhalten der Elektrode in strömenden Flüssigkeiten hinreichend gut beschreiben.

Mit Hilfe dieser Modellannahmen kann der Zeitverlauf des p_{CO_2} an der Glasmembran für alle Zeitverläufe vor der Grenzschicht berechnet werden, für die die Lösung des 2. Fick'schen Gesetzes bestimmt werden kann.

Übertragungsverhalten für sprunghörmige Eingangsfunktionen

Im folgenden wird der Zeitverlauf des p_{CO_2} an der Glasmembran für sprunghörmige Änderungen des p_{CO_2} vor der Grenzschicht berechnet (Abb. 19).

Nimmt man an, daß sich zur Zeit $t = 0$ am Orte $x = \xi$ der Partialdruck sprunghörmig von einem Ausgangswert p_0 auf $p_0 + \Delta p$ erhöht, so wird der Partialdruck am Orte $x = 0$ und damit das Signal, das die CO_2 -Elektrode mißt, zu

$$u(t) \sim p_{\text{CO}_2}(t)_{x=0}$$

$$u_{\text{norm}}(t) = 1 - \frac{4}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{2n+1} e^{-\frac{D(2n+1)^2 \pi^2}{4 \xi^2} t} \quad (c)$$

(CRANK, 1956).

Aus dem angegebenen Zeitverlauf läßt sich für verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten der Zeitpunkt bestimmen, an dem das Elektrodensignal 95 % des Endwertes erreicht hat. Abbildung 19 zeigt diesen Verlauf.

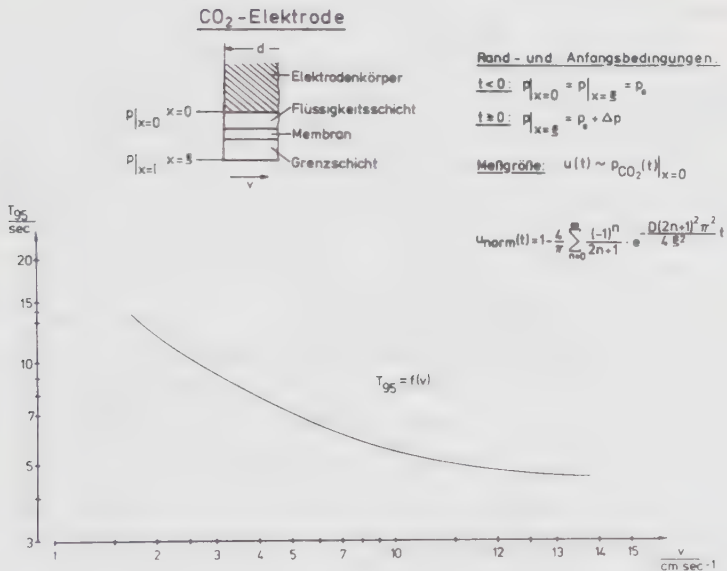


Abb. 19: Berechnung des CO₂-Verlaufs für sprunghörmige CO₂-Verläufe vor der Grenzschicht,
 oberes Diagramm:
 Modellannahme und Lösung des 2. Fick'schen Gesetzes für die angegebenen Rand- und Anfangsbedingungen
 unteres Diagramm:
 Verlauf der Einstellzeit T₉₅ als Funktion der Strömungsgeschwindigkeit.

Übertragungsverhalten für sinusförmige Eingangsfunktionen

Aus der Sprungantwortfunktion (Gleichung C) wurde durch Fourier-Transformation der Frequenzgang der Grenzschicht berechnet. Er ergibt sich zu:

$$F_g(j\omega) = 1 - \frac{4}{\pi} j\omega \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{2n+1} \frac{1}{j\omega + \frac{D(2n+1)^2 \pi^2}{4 \xi^2}}$$

In Abbildung 20 ist der Amplitudengang für 2 verschiedene Geschwindigkeiten dargestellt:

Die Werte wurden mit Hilfe eines dazu erstellten FORTRAN-Programmes errechnet.

Die in dem Diagramm eingetragenen Punkte wurden aus den Ergebnissen der in 2.5.1 beschriebenen Messungen ermittelt. Dazu wurde mit Hilfe eines von ISERMANN (1971) angegebenen ALGOL-Programmes aus dem Zeitverlauf des photometrischen Signals und aus dem Zeitverlauf des Elektrodensignals jeweils der Frequenzgang errechnet. Aus der Division der beiden Frequenzgänge ergibt sich der Frequenzgang des Übertragungssystems Grenzschicht + Elektrode.

Daß der aus dem theoretischen Ansatz errechnete Frequenzgang der Grenzschicht und der aus der Messung ermittelte Frequenzgang des Gesamtsystems Elektrode + Grenzschicht im wesentlichen übereinstimmen, zeigt, daß das Gesamtverhalten bei paralleler Anströmung wesentlich durch die Grenzschicht bestimmt wird.

Wie die Darstellung zeigt, ist die Dämpfung der Amplitude schon bei tiefer Frequenz beträchtlich, die Grenzschicht zeigt eine ausgeprägte Tiefpaßcharakteristik.

Um die Wirkung der Grenzschicht zu verringern, wurden weitere Versuchsreihen durchgeführt, bei denen die Flüssigkeit senkrecht auf die Elektrodenoberfläche auftraf. Dadurch, daß bei einem solchen Aufbau die Eintrittsöffnung für die Flüssigkeit als Düse ausgebildet werden kann (Durchmesser der Düse 1 mm, Abstand der Düse von der Oberfläche ca. 1mm), läßt sich bei etwa gleicher Stromstärke der Meßflüssigkeit eine wesentlich höhere Strömungsgeschwindigkeit vor der Elektrodenoberfläche erzielen als bei paralleler Anströmung. Da der Strahl senkrecht auf die Oberfläche auftritt, wird die Dicke einer sich in diesem Falle ausbildenden Grenzschicht wesentlich geringer sein als bei paralleler Anströmung.

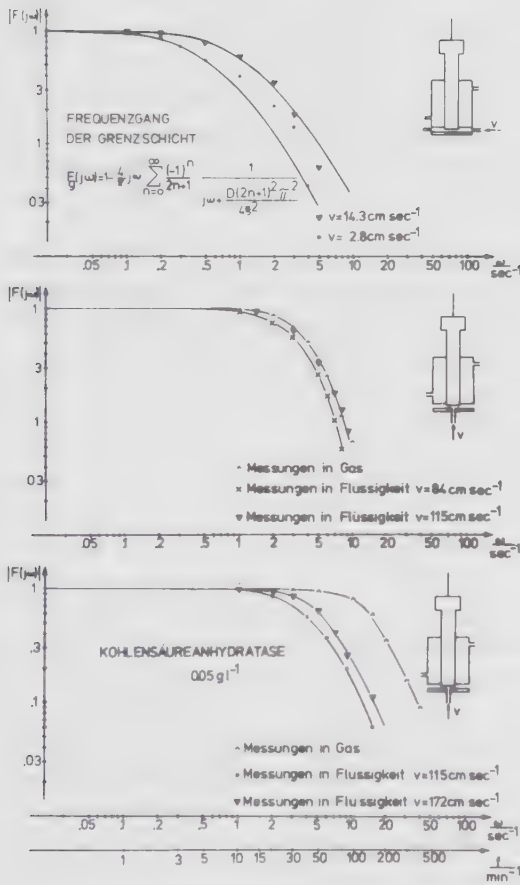


Abb. 20: Verlauf des Frequenzganges bei paralleler Anströmung (oberes Diagramm) und bei senkrechter Anströmung für eine Elektrode ohne und mit Kohlendioxid (mittleres und unteres Diagramm) bei verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten der Meßflüssigkeit.

Auch für diesen Aufbau wurde der Frequenzgang des Übertragungssystems Elektrode + Grenzschicht aus der photometrischen und der Elektrodenmessung errechnet. Abbildung 20 zeigt den Frequenzgangverlauf im unteren Diagramm für eine Elektrode mit, im mittleren Diagramm für eine Elektrode ohne Kohlensäureanhydratase jeweils für verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten bei senkrechter Anströmung. Zum Vergleich ist jeweils der Frequenzgang eingetragen, wie er sich bei der Messung im gasförmigen Medium ergibt.

Der Vergleich der einzelnen Darstellungen untereinander zeigt: Bei paralleler Anströmung ergibt sich die Grenzfrequenz - also die Frequenz, bei der die Amplitude um 3 dB abgefallen ist - zu $6,7 \text{ min}^{-1}$ für eine Strömungsgeschwindigkeit von $14,3 \text{ cm sec}^{-1}$. Dieser Strömungsgeschwindigkeit entsprach bei der benutzten Anordnung eine Stromstärke von $168 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$.

Bei senkrechter Anströmung vergrößert sich die Grenzfrequenz auf das etwa 4-fache auf $26,7 \text{ min}^{-1}$ für eine Strömungsgeschwindigkeit in der Eintrittsöffnung von 115 cm sec^{-1} entsprechend einer Stromstärke von etwa 54 ml/min . Der Vergleich der beiden Ergebnisse zeigt die Wirksamkeit dieser konstruktiven Maßnahme:

Die Grenzfrequenz erhöht sich auf das Vierfache trotz einer Verringerung der Gesamtstromstärke um einen Faktor von etwa 3.

Bei Verwendung von Kohlensäureanhydratase erhöht sich die Grenzfrequenz bei gleicher Strömungsgeschwindigkeit nur noch wenig auf $28,6 \text{ min}^{-1}$. Eine weitere Erhöhung der Grenzfrequenz ist dann noch möglich durch Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeit ($f_g = 48 \text{ min}^{-1}$ bei $v = 172 \text{ cm/sec}^{-1}$, Stromstärke = 81 ml/min).

Daß die Grenzfrequenz, die bei Messung in Gas erzielbar war, nicht erreicht wird, zeigt, daß auch bei Anströmung der Elektrode von unten mit der Ausbildung eines Diffusionshindernisses vor der Membran zu rechnen ist. Dadurch wird der Frequenzbereich für eine Verwendung in Flüssigkeiten eingeschränkt.

4.2 Ergebnisse der Messungen zur steady-state-Beziehung von Säuren-Basen-Zustand und elektrischem Widerstand

Der elektrische Widerstand des Blutes ist bestimmt

1. durch die Leitfähigkeit des Blutplasma
2. durch die Leitfähigkeit der Erythrozyten und
3. durch den Volumenanteil, den die Zellen am Gesamtvolumen einnehmen.

Da die Erythrozytenmembran isolierende Eigenschaften hat, ist die Leitfähigkeit der Erythrozyten klein gegenüber der des Blutplasma. PONDER (1935) gibt an, daß sie weniger als 2 % der Leitfähigkeit des Plasma beträgt. Der Gesamtwiderstand des Blutes wird damit wesentlich durch die beiden anderen Größen bestimmt.

Um die Einflußnahme dieser Faktoren voneinander trennen zu können, wurden der Widerstand für Vollblut, für isoliertes Plasma und für wahres Plasma als Funktion des Säuren-Basen-Status bestimmt.

4.2.1 Untersuchungen an Vollblut

Abbildung 21 zeigt an 2 Originalregistrierungen, die während eines Versuches gleichzeitig aufgenommen wurden, den Verlauf des Ohm'schen Widerstandes dargestellt als Funktion des CO_2 -Partialdruckes und des pH-Wertes. Beginnend bei $p_{\text{CO}_2} \approx 10$ Torr wurde durch Zugabe eines CO_2 - O_2 -Gemisches ($F_{\text{CO}_2} = 0,3$) der CO_2 -Druck erhöht und der pH-Wert gesenkt, der Widerstand nimmt dabei zu. Zur Kontrolle werden anschließend durch Auswaschen des CO_2 mit Hilfe von reinem O_2 der CO_2 -Druck und der pH-Wert auf den Ausgangswert zurückgeführt. Die Tatsache, daß der Widerstand seinen Ausgangswert wieder erreicht, zeigt, daß während des Versuches keine nennenswerten Veränderungen am Blut (Hämolyse, Sedimentation o.ä.) aufgetreten sind.

Abb. 22 zeigt den Verlauf der Widerstandsänderung als Funktion des CO_2 -Partialdruckes (in logarithmischer Teilung) und des pH-Wertes als Ergebnis einer grösseren Anzahl von Versuchen. Es sind angegeben die Widerstandsänderungen gegenüber dem Widerstand des

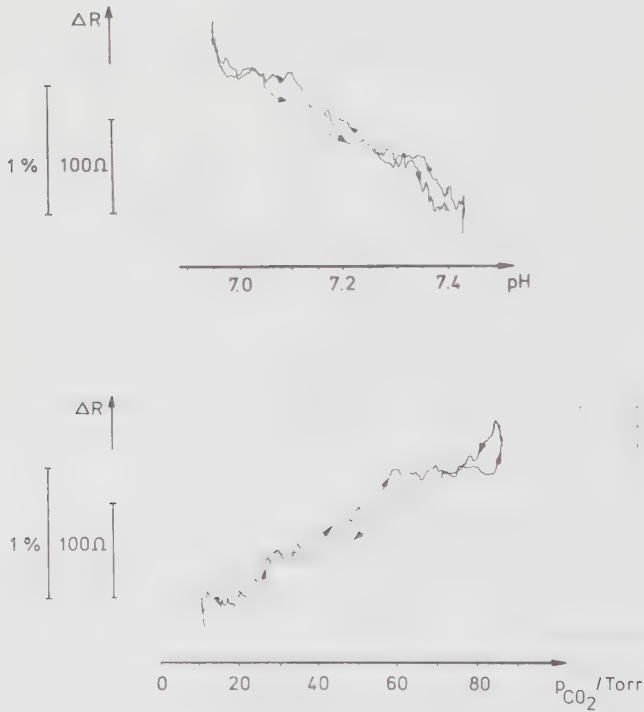


Abb. 21: Originalregistrierung der Veränderung des elektrischen Widerstandes ΔR als Funktion des CO_2 -Druckes und pH-Wertes.

Oberes Diagramm: $\Delta R = f(pH)$

Unteres Diagramm: $\Delta R = f(p_{CO_2})$

Die Veränderung des Säuren-Basen-Status erfolgte durch eine primäre Änderung des CO_2 -Druckes. Die Registrierungen wurden gleichzeitig während eines Versuches aufgenommen. Der Ausgangswert des elektrischen Widerstandes betrug 13.72 KΩ.

Blutes bei $p_{CO_2} = 40$ Torr bzw. bei $pH = 7.2$ als Absolutwerte in Ω und als Relativwerte in % bezogen auf den Widerstand bei $p_{CO_2} = 40$ Torr bzw. bei $pH = 7.2$. Der Widerstand nimmt mit steigendem CO_2 -Partialdruck bzw. sinkendem pH-Wert zu. Wird der Widerstandsverlauf jeweils durch eine Gerade approximiert, so ergibt sich die Steigung der Regressionsgeraden zu:

$$\frac{\Delta R}{\Delta \log p_{CO_2}} = 222,2 \Omega = 1,58 \%$$

$$\frac{\Delta R}{\Delta pH} = -308 \Omega = -2,19 \%$$

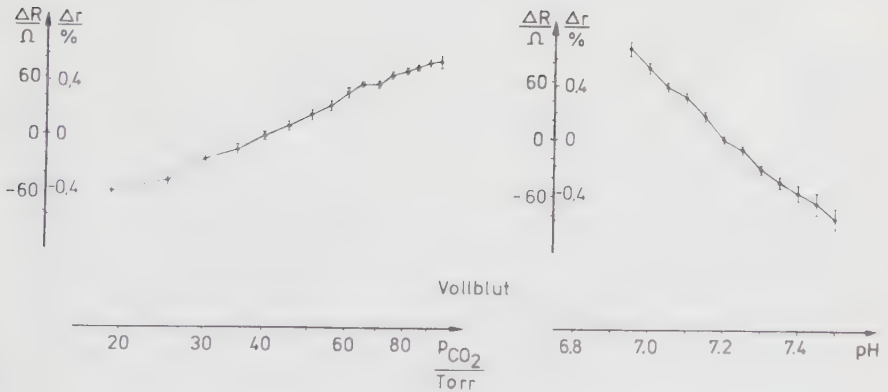


Abb. 22: Widerstandsänderung von Vollblut gegenüber dem Widerstand bei $p_{CO_2} = 40$ Torr bzw. $pH = 7.2$ als Funktion des CO_2 -Druckes² in logarithmischer Teilung und des pH-Wertes angegeben als Absolutwerte und als Relativwerte bezogen auf den Wert bei $p_{CO_2} = 40$ Torr bzw. bei $pH = 7.2$. Angegeben ist der Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Anzahl der Versuche:

für $\Delta R = f(pH)$: $n = 25$

für $\Delta R = f(p_{CO_2})$: $n = 22$

4.2.2 Untersuchungen an isoliertem Plasma

Die Messungen an isoliertem Plasma wurden in gleicher Weise wie die Messungen im Blut durchgeführt. Abbildung 23 zeigt den Verlauf der Widerstandsveränderung in isoliertem Plasma als Funktion des pH-Wertes und des CO_2 -Partialdruckes.

Mit steigendem CO_2 -Druck bzw. sinkendem pH-Wert nimmt der Widerstand ab. Bei Approximation der Widerstandsverläufe durch Geraden ergeben sich die Steigungen der Regressionsgeraden zu:

$$\frac{\Delta R}{\Delta \log p_{\text{CO}_2}} = - 95,39 \, \Omega = - 1.08 \, \%$$

$$\frac{\Delta R}{\Delta \text{pH}} = 89,9 \, \Omega = 0.95 \, \%$$

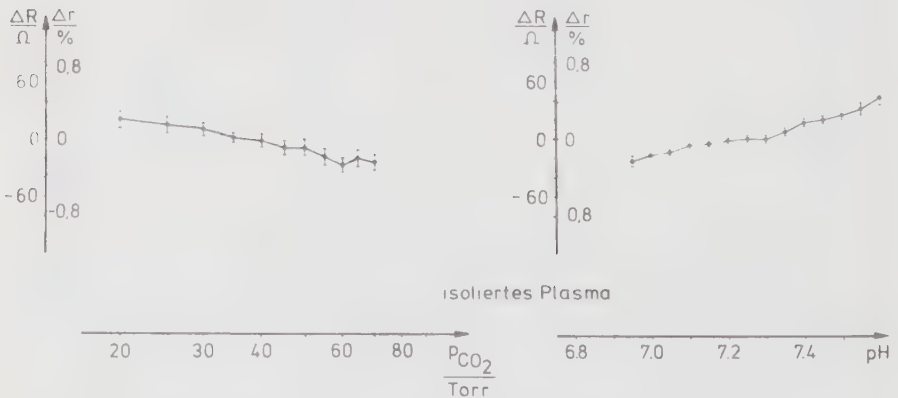


Abb. 23: Widerstandsveränderung von isoliertem Plasma gegenüber dem Widerstand bei $p_{\text{CO}_2} = 40$ Torr bzw. bei $\text{pH} = 7.2$ als Funktion des CO_2 -Druckes (in logarithmischer Teilung) und des pH-Wertes, angegeben als Absolut- und als Relativwerte bezogen auf den Widerstand bei $p_{\text{CO}_2} = 40$ Torr bzw. bei $\text{pH} = 7.2$. Angegeben ist der Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Anzahl der Versuche für
 $\Delta R = f(\text{pH})$: $n = 10$
 $\Delta R = f(p_{\text{CO}_2})$: $n = 22$

4.2.3 Untersuchungen an wahren Plasma

Um die Abhängigkeit des Widerstandes von Plasma zu bestimmen, das während der Einstellung des Säuren-Basen-Gleichgewichtes im Austausch mit den Erythrozyten gestanden hat, wurden auch Messungen in wahren Plasma durchgeführt. Das Verfahren zur Gewinnung des wahren Plasmas (s. Methodik) erlaubt es nur, Einzelmessungen durchzuführen und nicht eine kontinuierliche Messung, wie sie für Blut und isoliertes Plasma möglich war.

Abbildung 24 zeigt das Ergebnis der Messungen an 11 verschiedenen Blutproben, bei denen jeweils bei 2 bis 4 verschiedenen Säuren-Basen-Zuständen das wahre Plasma gewonnen wurde. Dabei wurde die Widerstandsänderung ermittelt als Differenz zum Widerstand jeweils einer Plasmaprobe, deren pH-Wert zwischen 6.96 und 7.05 lag. In Abbildung 24 ist die Regressionsgerade für die Meßpunkte angegeben, ihre Steigung beträgt

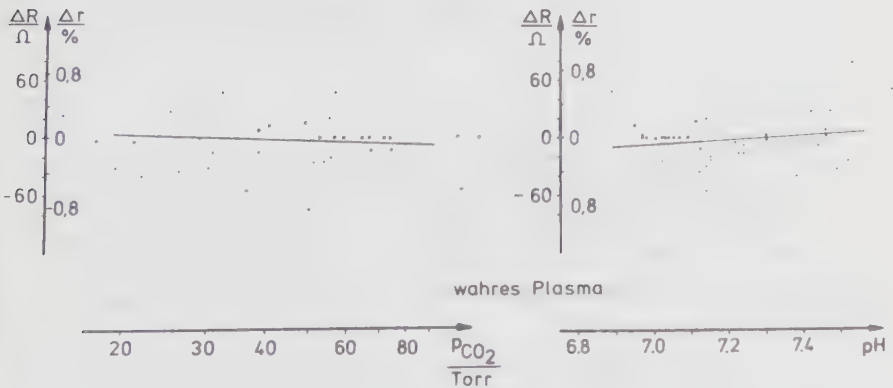


Abb. 24: Widerstandsänderung des wahren Plasma gegenüber dem Widerstand bei $6.95 \leq pH \leq 7.05$ als Funktion des CO_2 -Druckes (in logarithmischer Teilung) und des pH-Wertes, angegeben als Absolutwerte und als Relativwerte.

$$\frac{\Delta R}{\Delta \log p_{CO_2}} = - 17,06 \Omega = - 0.19 \%$$

$$\frac{\Delta R}{\Delta pH} = 27,8 \Omega = 0.32 \%$$

Der Widerstand von Plasma, das bei der CO_2 -Aufnahme in Kontakt mit den Erythrozyten gestanden hat, ändert sich mit dem Säuren-Basen-Status des Blutes nur wenig.

4.3 Zusammenhang zwischen elektrischem Widerstand und Hämatokritwert

Aus der Messung des elektrischen Widerstandes soll auf den Volumenanteil der Zellen am Gesamtvolumen (Hämatokritwert) geschlossen werden. Es wurden deswegen zur quantitativen Ermittlung dieses Zusammenhanges Messungen durchgeführt, bei denen das Blut stufenweise durch Zugabe von Plasma verdünnt wurde. Aus der Blutmenge und der jeweils zugegebenen Plasmamenge wird eine Größe

$$c_B = \frac{\text{Menge Blut der ursprünglichen Zusammensetzung}}{\text{gesamte Flüssigkeitsmenge}}$$

berechnet.

Abbildung 25 zeigt das Ergebnis einer solchen Messung. Der Widerstand ist als Funktion von c_B dargestellt. Die Meßwerte lassen sich durch eine Gerade annähern. Die Steigung der Geraden ist ein Maß für die Empfindlichkeit des elektrischen Widerstandes gegenüber Änderungen des Zellvolumens am Gesamtblutvolumen. Die Steigung ergibt sich zu

$$\frac{\Delta R}{\Delta c_B} = 9,47 K\Omega$$

Der Zusammenhang zum Hämatokritwert ist gegeben durch

$$HT = HT_0 \cdot c_B$$

HT_0 = Ausgangswert des Hämatokrit

HT = Hämatokritwert nach Verdünnung des Blutes mit Plasma.

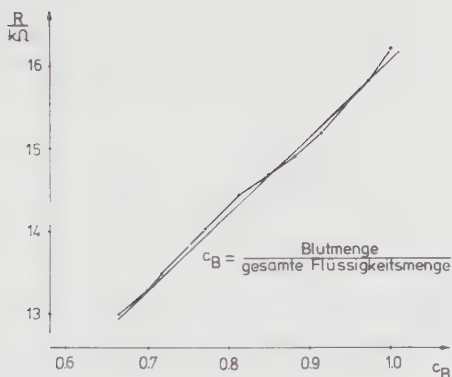


Abb. 25: Verhalten des elektrischen Widerstandes des Blutes bei Verdünnung mit Plasma

4.4 Ergebnisse der Messungen zum transienten Verhalten der Säuren-Basen-Parameter und des elektrischen Widerstandes

4.4.1 Untersuchungen an isoliertem Plasma

Abbildung 26 und Abbildung 27 zeigen Originalregistrierungen zweier Versuche, bei denen innerhalb von ca. 200 ms der CO_2 -Gehalt des Blutes durch Begasung mit einem O_2 - CO_2 -Gemisch ($F_{\text{CO}_2} = 0,3$) erhöht wurde.

Abbildung 26 zeigt eine Registrierung des CO_2 -Partialdrucks als Funktion der Reaktionszeit. (Diese X-Y-Darstellung ist möglich mit Hilfe des in Kap. 2.2.3 beschriebenen Verfahrens zur Erzeugung einer der Reaktionszeit analogen Spannung). Durch die Begasung ist der CO_2 -Druck schnell erhöht worden, er sinkt dann langsam ab wegen der Umsetzung des zunächst in physikalischer Lösung vorliegenden CO_2 zu Kohlensäure. Die Kohlensäure dissoziiert dann ihrerseits zu Bikarbonat- und Wasserstoffionen. Die entstehenden Wasserstoffionen werden dabei überwiegend von den Proteinpuffern des Plasmas aufgenommen. Den Zeitverlauf des pH-Wertes zeigt an Hand einer Originalregistrierung die Abb. 27.

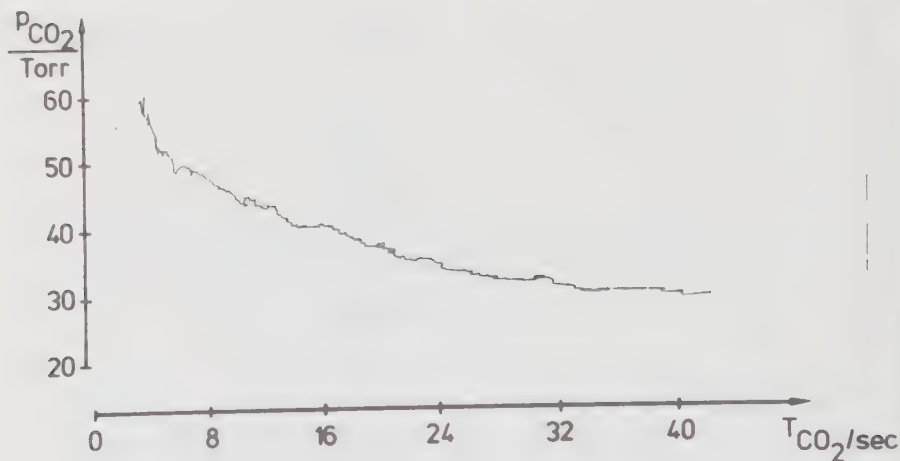


Abb. 26: Originalregistrierung des CO₂-Partialdruckes in isoliertem Plasma als Funktion der Reaktionszeit, nachdem innerhalb einer kurzen Zeit der CO₂-Gehalt erhöht wurde.

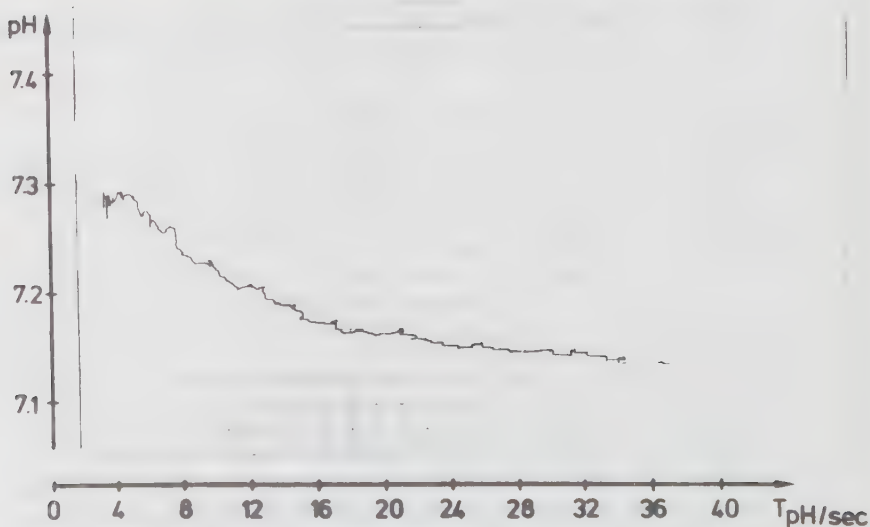


Abb. 27: Originalregistrierung des pH-Wertes in isoliertem Plasma als Funktion der Reaktionszeit, nachdem innerhalb einer kurzen Zeit der CO₂-Gehalt erhöht wurde.

Die Zusammenfassung einer größeren Anzahl von Versuchen zeigt die Abbildung 28, es sind dargestellt die Zeitverläufe des p_{CO_2} und des pH als Mittelwert $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes. Dabei wurde folgende Normierung vorgenommen:

$$\Delta p_{CO_2 N} = \frac{p_{CO_2}(t) - p_{CO_2_0}}{p_{CO_2_\infty} - p_{CO_2_0}}$$

$$\Delta pH_N = \frac{pH(t) - pH_\infty}{pH_0 - pH_\infty}$$

$$p_{CO_2_0} = p_{CO_2}(t < 0)$$

$$pH_0 = pH(t < 0)$$

$$p_{CO_2} = p_{CO_2}(t \rightarrow \infty)$$

$$pH_\infty = pH(t \rightarrow \infty)$$

Tabelle 2 gibt den Säuren-Basen-Status für den steady-state vor und nach der Begasung an.

	pH	p_{CO_2} / Torr	$[CO_2]_{ges}$ / mmol l^{-1}
$t < 0$	$pH_0 = 7.50 \pm 0.02$	$p_{CO_2_0} = 16.7 \pm 1.1$	$[CO_2]_{ges_0} = 13$
$t \rightarrow \infty$	$pH_\infty = 7.22 \pm 0.02$	$p_{CO_2_\infty} = 35.2 \pm 2.1$	$[CO_2]_{ges_\infty} = 15.5$
	$\Delta pH = 0.28$	$\Delta p_{CO_2} = 18.5$	$\Delta [CO_2]_{ges} = 2.5$

Pufferbase 31 mval l^{-1}

Tabelle 2: Säuren-Basen-Status des isolierten Plasmas vor ($t < 0$) und nach der Begasung ($t \rightarrow \infty$). Die Werte für $[CO_2]_{ges}$ und für die Pufferbase wurden nomographisch nach SINGER und HASTINGS (1948) gewonnen.
Anzahl der Versuche: $n = 16$

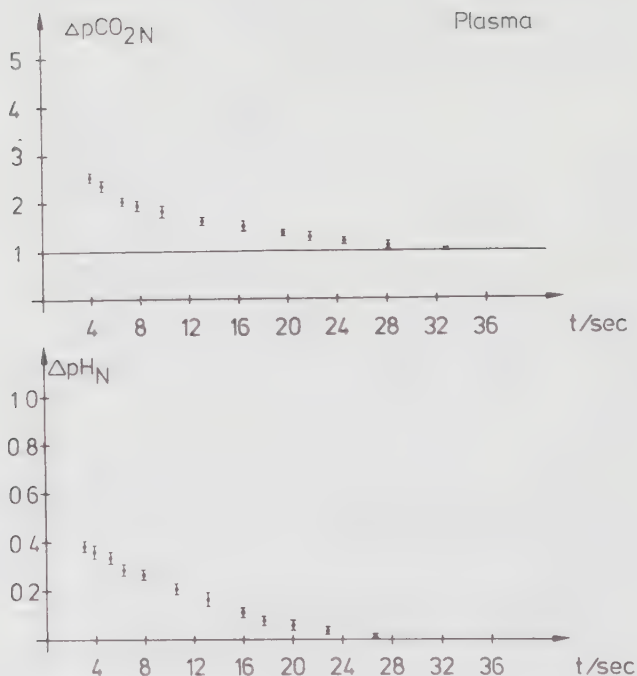


Abb. 28: Verlauf des pH-Wertes und des CO_2 -Partialdruckes als Funktion der Reaktionszeit für isoliertes Plasma. Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes.
Anzahl der Versuche: $n = 16$

Um zu überprüfen, ob die Ergebnisse durch Kohlensäureanhydratase, die durch Hämolyse in das Plasma gelangt ist, beeinflusst sind, wurden Kontrollmessungen durchgeführt, bei denen dem Plasma Acetazolamid (250 mg/l) zugefügt war. Ein Vergleich der Ergebnisse der Kontrollmessungen mit den Ergebnissen der Messungen an unbehandeltem Plasma zeigt, daß der Einfluß einer möglichen Hämolyse klein bleibt.

Der Zeitverlauf des CO_2 -Partialdruckes läßt sich durch eine mono-exponentielle Zeitfunktion

$$\Delta p_{\text{CO}_2 \text{ N}} = 1 + A e^{-t/T}$$

mit $A = 2.45$ und $T = 9.55 \text{ sec.}$

beschreiben.

Bei der hier verwendeten Versuchsanordnung wird dem Plasma durch die Begasung eine bestimmte CO_2 -Menge ($\Delta [\text{CO}_2]_{\text{ges}} = 2.5 \text{ mmol l}^{-1}$) zugegeben, dann wird es von einem weiteren Kontakt mit der Umgebungsluft ferngehalten. Es ist damit neben dem Zeitverlauf des pH und des p_{CO_2} auch bekannt, welche CO_2 -Menge vor und nach der Begasung im Plasma vorhanden ist. Aus diesen Angaben läßt sich für jeden Augenblick die Verteilung des CO_2 auf die einzelnen Anteile bestimmen:

1. CO_2 -Menge in physikalischer Lösung
2. Kohlensäureanteil
3. Bikarbonatanteil

(Der Anteil des CO_2 , der sich mit den Plasmaproteinen verbindet, wird wegen seiner Kleinheit vernachlässigt). Es gilt für jeden Augenblick $t > 0$:

$$[\text{CO}_2]_{\text{ges}} = [\text{CO}_2]_{\text{phys}} + [\text{H}_2\text{CO}_3] + [\text{HCO}_3^-]$$

$$[\text{CO}_2]_{\text{phys}} = \alpha \cdot p_{\text{CO}_2}$$

$$[\text{H}_2\text{CO}_3] = \frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{HCO}_3^-]}{K_1'}$$

$$K_1' = 1.6 \cdot 10^{-4} \quad (\text{PIIPER, 1972})$$

daraus ergibt sich:

$$[\text{HCO}_3^-] = \frac{[\text{CO}_2]_{\text{ges}} - \alpha p_{\text{CO}_2}}{\frac{10^{-\text{pH}}}{K_1'} + 1}$$

Abbildung 29 gibt den Zeitverlauf der einzelnen Größen wieder. Diese Daten geben eine vollständige Beschreibung der Säure-Basen-Parameter des isolierten Plasma, nachdem innerhalb kurzer Zeit der CO_2 -Gehalt erhöht wurde.

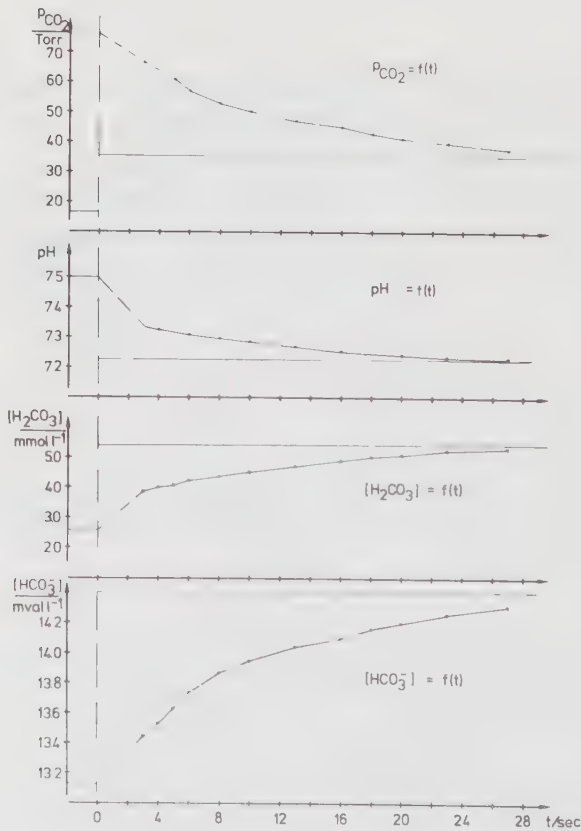


Abb. 29: Verlauf der Säuren-Basen-Parameter in isoliertem Plasma als Funktion der Reaktionszeit, nachdem innerhalb kurzer Zeit der CO_2 -Gehalt erhöht wurde.

$$(\Delta [\text{CO}_2]_{\text{ges}} = 2,5 \text{ mmol l}^{-1})$$

Mittelwerte aus 16 Versuchen.

4.4.2 Untersuchungen an Vollblut

Für Blut wurde neben den Messungen der Säuren-Basen-Parameter als Funktion der Reaktionszeit auch der zeitliche Verlauf der Widerstandsänderung nach Erhöhung des CO_2 -Gehaltes bestimmt.

Abbildung 30 zeigt das Ergebnis einer Messung an Hand einer Originalregistrierung. Bei diesem Versuch wurde der CO_2 -Gehalt um 9.6 mmol l^{-1} erhöht. Der CO_2 -Druck stieg dabei von 24.5 Torr auf 48 Torr.

Abbildung 31 zeigt die Ergebnisse einer größeren Anzahl von Versuchen zum transienten Verhalten der Säuren-Basen-Parameter und des elektrischen Widerstandes von Vollblut. Es sind angegeben die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes. Die Normierung für den pH- und p_{CO_2} -Verlauf wurde vorgenommen wie bei den Versuchen mit isoliertem Plasma.

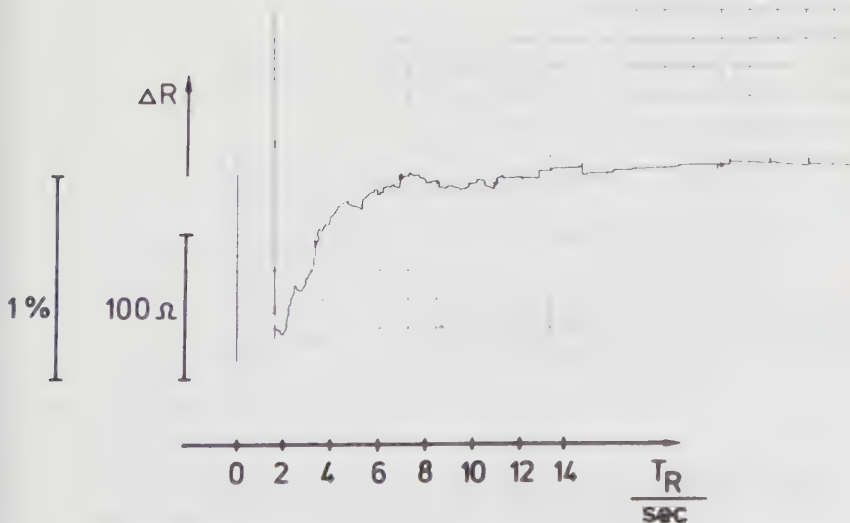


Abb. 30: Originalregistrierung: Verlauf der Widerstandsänderung als Funktion der Reaktionszeit nach Erhöhung des CO_2 -Gehaltes um $\Delta[\text{CO}_2]_{\text{ges}} = 9,6 \text{ mmol l}^{-1}$.

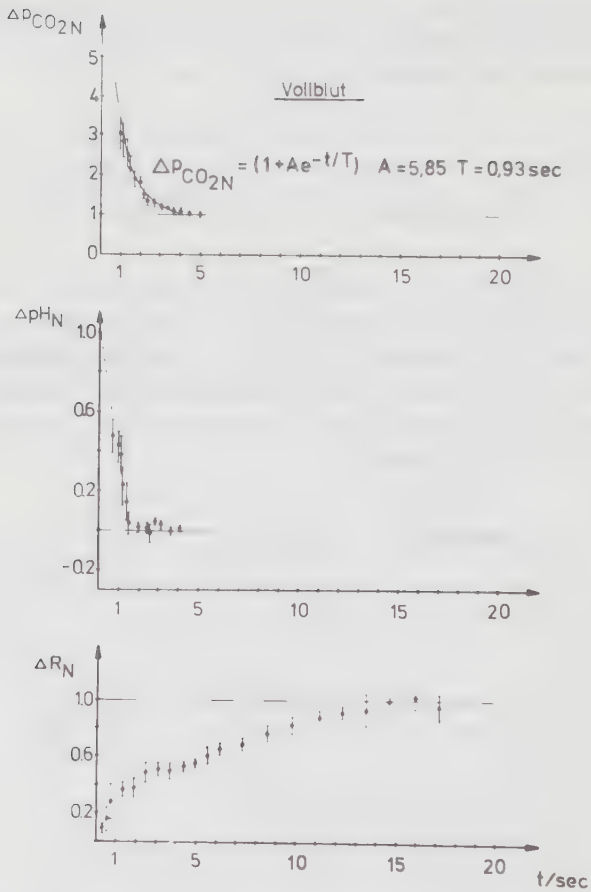


Abb. 31: Zeitverlauf der Säuren-Basen-Parameter und des elektrischen Widerstandes als Funktion der Reaktionszeit für Vollblut.

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes. Anzahl der Versuche für

$$\Delta p_{HN} = f(t) : n = 6$$

$$\Delta p_{CO_2N} = f(t) : n = 6$$

$$\Delta R_N = f(t) : n = 9$$

Zustätzlich gilt

$$\Delta R_N = \frac{R(t) - R_0}{R_\infty - R_0}$$

$$R_0 = R(t < 0)$$

$$R = R(t \rightarrow \infty)$$

Den Säuren-Basen-Status für den steady-state vor und nach der Begasung gibt Tabelle 3 an.

	pH	p_{CO_2} /Torr	$[CO_2]_{ges}/mmol\ l^{-1}$
$t < 0$	$pH_0 = 7.46 \pm 0.01$	$p_{CO_2_0} = 18.0 \pm 1.4$	$[CO_2]_{ges_0} = 10.9$
$t \rightarrow \infty$	$pH_\infty = 7.26 \pm 0.01$	$p_{CO_2_\infty} = 40.9 \pm 6.3$	$[CO_2]_{ges_\infty} = 16.1$
	$\Delta pH = 0.20$	$\Delta p_{CO_2} = 22.9$	$\Delta [CO_2]_{ges} = 5.2$

Pufferbase 38 mval l^{-1}

Tabelle 3: Säuren-Basen-Status für Vollblut vor ($t < 0$) und nach Begasung ($t \rightarrow \infty$)
Anzahl der Versuche : $n = 6$

Der CO_2 -Partialdruck sinkt, nachdem er durch die Begasung anfangs gegenüber dem Ausgangswert ($\Delta p_{CO_2\ N} = 0$) stark erhöht war, kontinuierlich auf den Endwert ($\Delta p_{CO_2\ N} = 1$) ab.

Der Zeitverlauf kann durch eine monoexponentielle Funktion

$$\Delta p_{CO_2\ N} = 1 + A e^{-t/T}$$

mit den Koeffizienten

$$A = 5.85 \quad \text{und} \quad T = 0.93 \text{ sec,}$$

angenähert werden. Dieser Zeitverlauf kommt dadurch zustande,

daß das CO_2 , das anfänglich vorwiegend in physikalisch gelöster Form vorliegt, durch die Hydratisierung zum größten Teil in Kohlensäure überführt wird, die dann ihrerseits in Bikarbonat- und Wasserstoffionen dissoziiert. Bei diesem Hydratisierungsvorgang sinkt der CO_2 -Partialdruck, und die Wasserstoffionenkonzentration im Plasma steigt an: Der pH-Wert erreicht seinen Endwert schneller als der CO_2 -Druck und bleibt dann konstant. Dieser geknickte Zeitverlauf kann gedeutet werden als Überlagerung zweier gegenläufiger Zeitprozesse:

1. Zunahme der Wasserstoffionenkonzentration:

Durch die Hydratisierung von CO_2 und durch die nachfolgende Dissoziation der Kohlensäure im Plasmaraum vergrößert sich die Zahl der Wasserstoffionen im Plasma. Diese Reaktion verläuft langsam, da sie nicht durch ein Enzym katalysiert wird. Der Zuwachs an Wasserstoffionen ist aber dennoch wegen der schlechten Pufferung des Plasmas groß.

2. Verringerung der Wasserstoffionenkonzentration:

Im Innern des Erythrozyten läuft die Hydratisierung des CO_2 wegen der Kohlensäureanhydratase beschleunigt ab, die HCO_3^- -Konzentration steigt dadurch schnell an. Dem Konzentrationsgradienten folgend tritt HCO_3^- aus der Zelle aus und reagiert dort teilweise mit den extrazellulär gebildeten Wasserstoffionen zu H_2CO_3 . Durch diesen Prozeß wird also ein Teil der Wasserstoffionen aufgefangen.

Der elektrische Widerstand erreicht nur langsam seinen neuen Endwert ($T_{95} \approx 13 \text{ sec}$). Es ist anzunehmen, daß erst nach dieser Zeit alle Austauschprozesse abgeschlossen sind und erst dann ein neues thermodynamisches Gleichgewicht erreicht ist.

4.4.3 Untersuchungen an Blut mit Acetazolamid

Abbildung 32 zeigt die Ergebnisse der Messungen an Blut bei dem die Kohlensäureanhydratase durch den Zusatz von Acetazolamid gehemmt war. (Normierung der Meßdaten s.o.).

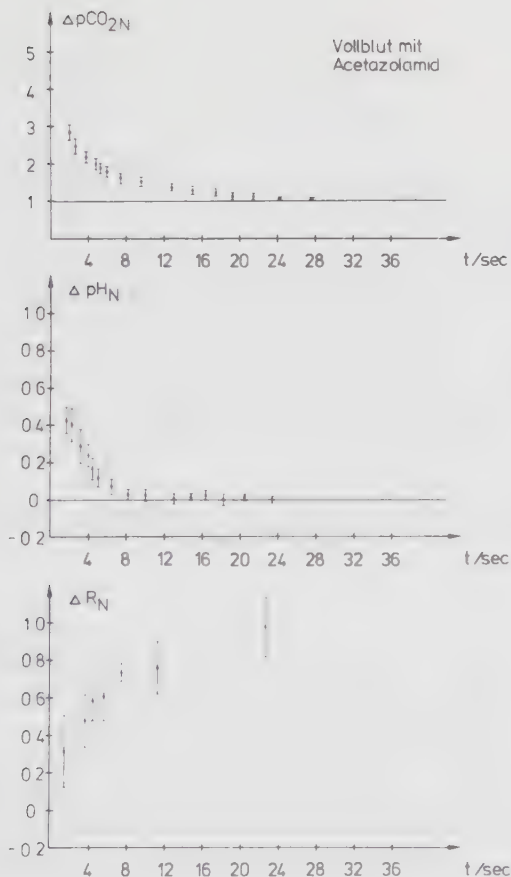


Abb. 32: Zeitverlauf der Säuren-Basen-Parameter und des elektrischen Widerstandes als Funktion der Reaktionszeit für Blut mit Acetazolamid.

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Anzahl der Versuche:

für $pH = f(t)$: $n = 9$

$pCO_2 = f(t)$: $n = 9$

$R = f(t)$: $n = 11$

Den Säuren-Basen-Status für den steady-state vor und nach der Begasung gibt Tabelle 4.

	pH	$p_{\text{CO}_2}/\text{Torr}$	$[\text{CO}_2]_{\text{ges}}/\text{mmol l}^{-1}$
$t < 0$	$\text{pH}_0 = 7.35 \pm 0.03$	$p_{\text{CO}_2}_0 = 21.3 \pm 2.5$	$[\text{CO}_2]_{\text{ges}_0} = 10.4$
$t \rightarrow \infty$	$\text{pH}_\infty = 7.21 \pm 0.03$	$p_{\text{CO}_2}_\infty = 38.6 \pm 3.6$	$[\text{CO}_2]_{\text{ges}_\infty} = 14$
	$\Delta \text{pH} = 0.14$	$\Delta p_{\text{CO}_2} = 17.3$	$\Delta [\text{CO}_2]_{\text{ges}} = 3.6$

Pufferbase: 35.5 mval l^{-1}

Tabelle 4: Säure-Basen-Status für Blut mit Acetazolamid vor ($t < 0$) und nach Begasung ($t \rightarrow \infty$).
Anzahl der Versuche : $n = 9$

Wie erwartet, sinkt der CO_2 -Druck wegen des fehlenden Enzyms in diesem Versuch langsamer ab als in Vollblut, der Abfall erfolgt jedoch schneller als im Plasma, weiterhin hat auch hier, wie für Vollblut der pH-Wert einen geknickten Zeitverlauf.

Der Zeitverlauf des CO_2 -Druckes läßt sich nicht wie bei Vollblut und bei Plasma durch eine monoexponentielle Zeitfunktion beschreiben. Nach einem schnellen Abfall am Anfang folgt der Partialdruck dann für Zeiten $t > 6 \text{ sec}$ einer Exponentialfunktion mit der Zeitkonstanten $T = 6.99 \text{ sec}$.

5. DISKUSSION

5.1 Kritik der Methoden und Fehlerquellen

5.1.1 Alterung des Blutes

Um Fehlmessungen zu vermeiden, die durch die Alterung des Blutes bedingt sind, wurden für die Auswertung nur Versuche herangezogen, die innerhalb von 6 Stunden nach der Tötung der Tiere durchgeführt wurden (Gleiche Zeitangabe bei FORSTER und CRANDELL, 1975).

Bei einer Anzahl von Versuchen zum transienten Verhalten zeigte sich bei Kontrollmessungen ohne Begasung bei zunehmendem Alter des Blutes eine starke Abhängigkeit des Widerstandes von der Strömungsgeschwindigkeit. Eine mögliche Ursache für dieses Verhalten ist die Zusammenlagerung von Erythrozyten. Versuche, bei denen diese Strömungsabhängigkeit vorlag, wurden für die Auswertung nicht benutzt.

5.1.2 Temperatur

Um zu gewährleisten, daß Temperatureinflüsse die Meßergebnisse nicht verfälschen, waren alle Meßsysteme, alle Schlauch- und Rohrverbindungen und alle Behälter für die Meßflüssigkeit durch einen Wassermantel auf 37°C thermostatisiert. Die Temperaturkonstanz ist wegen des großen Temperaturkoeffizienten für die elektrische Leitfähigkeit (etwa 2 % je °C nach SCHWAN, 1941, etwa 2,6 % je °C nach FREWER, 1972) vor allem für die Widerstandsmessung von Bedeutung.

5.1.3 Abhängigkeit der CO₂-Aufnahme vom Oxygenierungsgrad des Hb

Um zu vermeiden, daß eine Beeinflussung der CO₂-Bindung durch den Oxygenierungsgrad des Hb auftrat (Christiansen-Douglas-Haldane-Effekt) wurden für die Voräquilibrierung und für die Begasung während der Versuche nur CO₂-O₂-Gasgemische mit $f_{O_2} > 0,2$ verwendet, um so eine Vollsättigung des Hb mit O₂ zu gewährleisten.

5.1.4 pH-Messung

Zur pH-Messung sind die Meßflüssigkeit und die pH-Bezugselektrode über eine KCl-Brücke verbunden. Richtige Meßergebnisse sind nur zu erwarten, wenn diese Flüssigkeitsverbindung luftblasenfrei ist. Dies ist von besonderer Bedeutung bei der Untersuchung transients Vorgänge, da hier zur Erzielung einer ausreichenden Strömungsgeschwindigkeit durch die Saugpumpe ein Unterdruck erzeugt wird, der auch auf die KCl-Brücke einwirkt und diese Verbindung vor allem dann verändert, wenn sie nicht blasenfrei ist. Die Prüfung der Konstanz dieser Verbindung erfolgt durch Nacheichung.

5.1.5 Widerstandsmessung

Um zu gewährleisten, daß sich in der Widerstandsmeßzelle keine Ablagerungen auf den Elektroden gebildet haben, wurden für die zur Eichung der pH-Elektrode ohnehin benutzten Phosphatpuffer jeweils auch die Widerstandswerte abgelesen und mit vorher bestimmten Sollwerten verglichen. Alle Messungen des elektrischen Widerstandes erfolgten in strömenden Blut. Der Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit auf die elektrische Impedanz des Blutes ist von vielen Autoren insbesondere in Hinblick auf eine Anwendung zur Blutflow-Messung experimentell und theoretisch untersucht worden (SIGMAN et al., 1937, VELICK und GORIN, 1940, LIEBMAN et al., 1962, FREWER, 1972, EDGERTON, 1974). Als bedeutsam für diesen Zusammenhang ergibt sich vor allem die räumliche Orientierung der Erythrozyten im elektrischen Feld, die ihrerseits wieder von der Art der Strömung (turbulent-laminar), vom Strömungsprofil, von der Geometrie der Elektrodenanordnung und von der Richtung des elektrischen Feldes relativ zur Strömungsrichtung und der Zahl der Erythrozyten je Volumeneinheit bzw. dem Hämatokritwert abhängt. Von Bedeutung ist weiterhin die Tatsache, daß nach Beobachtungen von SCHMID-SCHÖNBEIN und WELLS (1969) die Erythrozyten sich in der Strömung zu gestreckten Ellipsoiden verformen.

Für alle Versuche zum transienten Verhalten des Blutes wurde jeweils eine Kontrollmessung durchgeführt, um eine eventuell vorhandene Abhängigkeit des Widerstandes von der Strömungsgeschwindigkeit zu erkennen. Für frisches Blut war die Widerstandsveränderung

für den ausgenutzten Bereich der Strömungsgeschwindigkeit vernachlässigbar klein. Versuche, bei denen sich, bedingt durch die Alterung des Blutes, eine starke Abhängigkeit ergab, wurden nicht ausgewertet

5.1.6 Bestimmung der Reaktionszeit

Bei der Untersuchung der transienten Vorgänge wird, wie in Kap. 2.2.3 beschrieben, der Reaktionszeitpunkt aus der Stromstärke der Meßflüssigkeit und dem Volumen der Versuchsanordnung bis zur Meßstelle bestimmt. Diese Zeitbestimmung läßt zwei Fehler zu:

1. Die Zeit, in der das Blut in der Begasungsstrecke (Strecke zwischen a und b in Abb. 2) sich aufhält (ca. 200 msec.) wird nicht berücksichtigt. Eine genaue Angabe des dadurch entstehenden Fehlers ist nicht möglich, da wegen der noch unvollständigen Durchmischung von Meßflüssigkeit und CO_2 in der Begasungsstrecke die exakte Definition des Zeitpunktes des Reaktionsbeginns nicht möglich ist. Die angegebenen Reaktionszeiten sind durch diese Ungenauigkeit eher zu klein.
2. Es wird für die Zeitbestimmung angenommen, daß die Strömungsgeschwindigkeit im Zentrum der Rohr- und Schlauchverbindungen und an den Rändern sich nicht unterscheiden; ein sich eventuell ausbildender langsamer Randstrom wird vernachlässigt. Dieser Fehler ist bei turbulenter Strömung eher zu vernachlässigen als bei laminarer (PIIPER, 1964). Durch den Aufbau bedingt fließt die Meßflüssigkeit nicht durch ein homogenes Rohr, sondern es sind jeweils an den Verbindungsstellen der Meßsysteme brechende Kanten und Ecken vorhanden, die die Ausbildung von Inhomogenitäten im Strömungsfeld sowie die Entstehung von Verwirbelungen begünstigen.
Dieser geometrische Aufbau gestattet es nicht, durch Berechnung der Reynold'schen Zahl die Frage zu klären, ob eine laminare oder eine turbulente Strömung vorliegt. Es wurde deswegen der Einfluß eventuell vorhandener 'Randstromeffekte' auf andere Weise überprüft: Der Versuchsaufbau konnte dadurch verändert werden, daß zwischen dem Punkt b der Begasungseinrichtung und der Eintrittsstelle in die Meßsysteme (Abb. 2, Kap. 2.2.3)

ein zusätzliches Rohr eingefügt wird. Wird jetzt der Reaktionsablauf unter Verwendung verschieden langer Rohre und dementsprechend veränderten Strömungsgeschwindigkeiten bestimmt, so zeigt es sich, daß bei den verwendeten Strömungsgeschwindigkeiten der Einfluß geschwindigkeitsabhängiger 'Randstromeffekte' auf die Meßergebnisse klein bleibt.

Andere Untersucher benutzen für ähnliche Messungen Versuchsanordnungen, bei denen die Zeit zwischen Reaktionsbeginn und Meßzeitpunkt dadurch variiert wird, daß das Meßmedium durch Rohre unterschiedlicher Länge zur Meßstelle geführt wird. (CRAW, CONSTANTINE, MORELLO und FORSTER, 1963, CONSTANTINE, CRAW und FORSTER, 1965, HOLLAND und FORSTER, 1975). Dies hat den Vorteil, daß bei konstanter Strömungsgeschwindigkeit gemessen werden kann. Es ist aber erforderlich, für jeden Meßpunkt den Versuchsaufbau umzubauen. Die von uns verwendete Anordnung gestattet es, innerhalb kurzer Zeit den gesamten Reaktionsverlauf durch Variation der Strömungsgeschwindigkeit zu bestimmen und damit alle Fehler, die durch zeitabhängige Veränderung des Versuchsmaterials entstehen (Alterung, Hämolyse o.ä.), auszuschließen. Dies war insbesondere in Hinblick auf die Widerstandsmessung von Bedeutung, bei der nur kleine Nutzsignale zur Verfügung stehen.

5.1.7 Begasung der Meßflüssigkeit

Alle Gasgemische, die der Meßflüssigkeit zugemischt wurden, waren zuvor auf 37°C angewärmt. Zur Befeuchtung wurden sie durch 2 hintereinander geschaltete Gaswaschflaschen und anschließend durch ein Abtropfgefäß geschickt. Alle Schläuche und Rohre, durch die das Gas geleitet wurde, waren durch ein Wasserbad bzw. durch einen Wassermantel auf 37°C thermostatisiert. Für diese Maßnahmen war eine besondere Sorgfalt nötig, weil vermieden werden mußte, daß dem Blut durch das Gas entweder Feuchtigkeit entzogen oder zugeführt wurde. Beide Fälle hätten insbesondere bei der Widerstandsmessung falsche Resultate hervorgerufen.

Daß die Versuchsanordnung die gestellten Bedingungen erfüllt, zeigt Abbildung 21: Auch nach längerer Begasung erreicht der Widerstand wieder seinen Ausgangswert.

5.1.8 Verwendung von Acetazolamid

Zur Hemmung der Kohlensäureanhydratase wird dem Blut in einer Reihe von Versuchen Acetazolamid zugesetzt. Nach Untersuchungen von COUSIN, MOTAIS und SOLA (1975) und MOTAIS und COUSIN (1976) wirken die Sulphonamide nicht nur als Hemmer der Kohlensäureanhydratase sondern sie wirken auch hemmend für den Bikarbonat-Chlorid-Austausch. Diese Tatsache ist möglicherweise die Ursache dafür, daß nach Zusatz von Acetazolamid der elektrische Widerstand des Blutes keinen konstanten Wert erreicht. Auf die sich daraus ergebende Konsequenz für den Versuchsablauf wurde bereits in Kap. 2.2.3 hingewiesen.

5.2 Zusammenfassung und Diskussion der Meßergebnisse in Blut und Plasma

5.2.1 Steady-state Zusammenhang zwischen Säuren-Basen-Parametern und Hämatokritwert

Für die Größe des elektrischen Widerstandes des Blutes sind von Bedeutung:

1. die Leitfähigkeit des Plasma

und

2. der Volumenanteil, den die Erythrozyten am Gesamtraum einnehmen.

Dieser Volumenanteil ist bestimmt durch die Zahl der Erythrozyten und durch ihre Größe.

Der Einfluß der Leitfähigkeit der Erythrozyten wurde bereits erörtert (Kap. 4.2)

Um eine Aussage über die Volumenänderung machen zu können, die die Erythrozyten bei der CO_2 -Aufnahme erfahren, war es nötig, die Leitfähigkeitsänderungen des Plasma bei diesem Prozeß zu kennen. Die Messungen an isoliertem Plasma zeigen, daß sich mit steigendem CO_2 -Druck der elektrische Widerstand verringert. Die Gründe dafür sind:

1. die Zahl der Ladungsträger im Plasma nimmt bei der Bindung von CO_2 zu

und

2. Anstelle von Proteinanionen sind vermehrt Bikarbonatanionen mit größerer Beweglichkeit vorhanden.

Die durch die Hydratation des CO_2 entstehende Kohlensäure dissoziiert größtenteils in Bikarbonat- und Wasserstoffionen. Der überwiegende Teil der Wasserstoffionen wird abgepuffert, nur ein kleiner Teil bleibt in der Lösung und vergrößert die Leitfähigkeit des Plasma. Dabei erhöht sich die Zahl der Anionen um den gleichen Betrag. Für die Vergrößerung der Leitfähigkeit haben allerdings die Wasserstoffionen die weitaus größere Bedeutung, da ihre Beweglichkeit etwa um das 10-fache größer ist als die der Anionen (KORTÜM, 1972).

Die Zahl der zusätzlich gebildeten Wasserstoffionen und damit auch die der zusätzlich entstehenden Anionen ergibt sich bei einer Änderung des pH-Wertes von 7,4 auf 7,0 zu $6 \cdot 10^{-8}$. Durch den Pufferungsprozeß verringert sich die Zahl der Proteinanionen im Plasma, stattdessen vergrößert sich die Bikarbonatkonzentration. Wegen der größeren Beweglichkeit der Bikarbonationen führt dieser Austausch zu einer Verkleinerung des elektrischen Widerstandes.

Insgesamt führen beide Einflüsse nur zu einer geringen Widerstandsabhängigkeit.

Im Vollblut ist für das die Erythrozyten umgebende Plasma (wahres Plasma) mit den gleichen Mechanismen zu rechnen. Auf Grund des Hamburger Shiftes verringert sich allerdings die Zahl der Chloridionen und stattdessen treten im Plasma vermehrt Bikarbonationen auf. Da die Beweglichkeit der Bikarbonationen um etwa 42 % geringer ist als die der Chloridionen, ist eine noch geringere Widerstandsabhängigkeit zu erwarten (Beweglichkeit für Cl^- : $b_{\text{Cl}^-} = 76,35 \text{ cm}^2\Omega$ und Beweglichkeit für HCO_3^- : $b_{\text{HCO}_3^-} = 44,50 \text{ cm}^2\Omega$ (KORTÜM, 1972)). Die Messung des Widerstandes von $\frac{1}{3}$ wahren Plasma bestätigen diese Überlegungen.

Die Messungen an Vollblut zeigen einen Anstieg des Widerstandes mit steigendem CO_2 -Druck. Da der Widerstand des Plasma, das bei der Einstellung des Säuren-Basen-Gleichgewichtes mit den Zellen in Kontakt steht, sich nur wenig ändert, wie die Messungen an wahren

Plasma zeigen, kann man annehmen, daß die Veränderung des Zellvolumens am Gesamtvolumen - also ein Schwellen der Erythrozyten - die Hauptursache für diese Widerstandszunahme ist. Die gesamte Widerstandsveränderung, die durch die Volumenveränderung der Erythrozyten verursacht ist, ergibt sich aus der Differenz zwischen den Widerstandskennlinien für Vollblut und wahres Plasma als Funktion des pH-Wertes bzw. des CO_2 -Partialdruckes.

Um eine Beziehung herstellen zu können zwischen der Widerstandsänderung und der Änderung des Hämatokritwertes, wurde in getrennten Versuchen durch Zugabe von Plasma der relative Zellanteil geändert und die Widerstandsabhängigkeit bestimmt. Für die Ermittlung der Abhängigkeit des Hämatokritwertes von den Säuren-Basen-Parametern wird angenommen, daß eine gleiche Widerstandsveränderung in beiden Versuchen durch die gleiche Veränderung des Hämatokritwertes bedingt ist, obwohl sie auf unterschiedliche Weise entstanden ist: In einem Falle durch eine Volumenzunahme des einzelnen Erythrozyten und im zweiten durch eine Veränderung der Erythrozytenzahl je Volumeneinheit.

Ob der Vergleich der verschiedenen Versuche möglich ist, soll mit Hilfe einer Beziehung von FRICKE (1924) untersucht werden. Diese Beziehung stellt den Zusammenhang zwischen dem elektrischen Widerstand einer Flüssigkeit und der Volumenkonzentration an nicht leitenden Ellipsoiden in einem leitenden Medium her. Für Blut gilt die Beziehung nur näherungsweise, da die Form des Erythrozyten nur näherungsweise durch eine Ellipsoid beschreibbar ist. Es gilt:

$$\frac{r_B}{r_p} = \frac{1 + \varrho/\gamma}{1 - \varrho}$$

r_B = spez. Widerstand des Gesamtmediums (Blut)

r_p = spez. Widerstand des Mediums, das die Ellipsoide umgibt (Plasma)

ϱ = Volumenkonzentration der nicht leitenden Spheroide in der Lösung

γ = Formfaktor (Der Formfaktor ist abhängig vom Verhältnis der Achsen des Ellipsoides, für Kugeln wird $\gamma = 2$, bei

Zunehmen der Abweichung der Ellipsoide von der Kugelform nähert sich γ dem Wert 1).

Wird durch Zugabe von isotonem Plasma der Hämatokritwert verändert, so ändert sich in der o.a. Beziehung nur der Wert von g .

Im Falle des Schwellens der Erythrozyten bei der CO_2 -Aufnahme verändert sich neben der Volumenkonzentration auch der Formfaktor der Erythrozyten. PONDER (1935) hat entsprechende Messungen durchgeführt und den Formfaktor bestimmt in Abhängigkeit von der Tonizität des die Erythrozyten umgebenden Plasmas. Er findet für Kanninchenblut einen Formfaktor von 1.1. Für Veränderungen der Tonizität um weniger als 30 % ändert sich γ um weniger als 1 %. Für unsere Messungen, bei denen die Tonizität weitaus weniger variiert wird, wird es damit möglich sein, die Veränderungen des Formfaktors als vernachlässigbar anzunehmen. Damit ist jede Widerstandsveränderung als Folge einer Veränderung der Zellvolumenkonzentration anzusehen und die Verdünnungsexperimente und die Experimente bei denen eine Widerstandsänderung durch die CO_2 -Aufnahme ausgelöst wird, sind vergleichbar.

Auf Grund der Ergebnisse der Verdünnungsexperimente wird angenommen, daß im untersuchten Bereich ein linearer Zusammenhang zwischen dem elektrischen Widerstand und dem Hämatokritwert vorliegt. Einen ebenfalls linearen Zusammenhang zeigen die Messungen von RAJEWSKY und SCHWAN (1943) sowie von HILL und THOMPSON (1975). SCHWAN (1948) gibt einen linearen Zusammenhang zwischen der Erythrozytenzahl und der Leitfähigkeit an. Der Zusammenhang zwischen dem elektrischen Widerstand und der Erythrozytenzahl (bzw. dem Hämatokritwert) wird damit hyperbolisch. Die Daten zeigen allerdings, daß in dem betrachteten Bereich nur eine geringe Abweichung der Hyperbel von einer Geraden vorliegt.

GEDDES und SADLER (1973) haben für verschiedene Spezies die Widerstandsabhängigkeit vom Hämatokritwert bestimmt. Sie approximieren ihre Meßwerte durch Exponentialfunktionen, die Abweichung von einer Geraden ist in dem betrachteten Bereich jedoch nur klein. Es ergeben sich für die Steilheit der Kennlinien Unterschiede für die einzelnen Spezies. Der Vergleich ihrer Ergebnisse für Rinderblut

bei 37°C mit unseren Messungen zeigt eine gute Übereinstimmung. Sie ermitteln für eine 10 %-ige Hämatokritwertänderung eine Widerstandsänderung von 6.18 %. Aus unseren Messungen ergibt sich eine Veränderung des Widerstandes um 5.85 %.

Aus den Widerstandskennlinien für Vollblut und wahres Plasma als Funktion des pH-Wertes und des CO₂-Druckes und dem Verlauf des Widerstandes bei Verdünnung des Blutes mit Plasma wurde der Zusammenhang zwischen Säuren-Basen-Parametern und Hämatokritwert errechnet. Tabelle 5 gibt die Ergebnisse. Es sind angegeben die prozentuale Veränderung des Hämatokritwertes in % des Ausgangswertes bei pH_p = 7,5 bzw. bei pCO₂ = 20 Torr. Der Hämatokritwert erweist sich als lineare Funktion² von pH bzw. von log pCO₂.

$\frac{p_{CO_2}}{\text{Torr}}$	$\frac{\Delta \text{ HT}}{\%}$	pH	$\frac{\Delta \text{ HT}}{\%}$
20	0	7.5	0
30	0.45	7.4	0.35
40	0.75	7.3	0.71
50	1.00	7.2	1.05
60	1.19	7.1	1.41
70	1.36	7.0	1.76
80	1.51		

Tabelle 5: Veränderung des Hämatokritwertes in % des Ausgangswertes bei pCO₂ = 20 Torr bzw. pH = 7.5.

Die von uns bestimmten Hämatokritwertänderungen als Folge der CO₂-Aufnahme sollen verglichen werden mit Daten für Blut in vitro von WARBURG (1922), v. SLYKE, WU und McLEAN (1923) und von MÜCKENHOFF (1973) sowie mit Meßdaten in vivo von van BEAUMONT und ROCHELLE (1973) und COSTILL, BRANAM, EDDY und FINK (1974). Wie aus unseren Messungen ergibt sich aus theoretischen Modellberechnungen von v. SLYKE, WU und Mc LEAN (1923) und von MÜCKENHOFF (1973) eine lineare Beziehung zwischen dem Hämatokritwert und dem pH-Wert.

Beide Autoren gehen für die Bestimmung des Zellvolumens von der Gleichheit des osmotischen Druckes im Intra- und Extrazellulärraum aus. Diese theoretischen Berechnungen fordern allerdings eine größere Hämatokritwertabhängigkeit vom pH-Wert. Die von v. SLYKE et al. errechneten Änderungen des Zellvolumens sind um einen Faktor 2.25, die Werte von MÜCKENHOFF sind um einen Faktor 3.5 größer als unsere Meßwerte.

Experimentelle Bestimmungen der Volumenveränderungen der Erythrozyten sind mit verschiedenen Methoden von WARBURG (1922) und von v. SLYKE et al. (1923) durchgeführt worden. V. SLYKE et al. bestimmen den Wassergehalt von Plasma und Zellen aus einer Bestimmung des spezifischen Gewichtes der beiden Anteile. Ihre Meßwerte zeigen eine geringere Abhängigkeit vom pH-Wert als es ihren Modellberechnungen entspricht. Die Meßwerte entsprechen in etwa den von uns ermittelten Werten.

WARBURG (1922) bestimmt das Zellvolumen aus der O_2 -Kapazität des Blutes in Abhängigkeit vom pH-Wert des Plasmas: Dazu nimmt er für ein bestimmtes Zellvolumen eine konstante d.h. pH-unabhängige O_2 -Kapazität an. Aus der experimentell bestimmten O_2 -Kapazität errechnet er das Zellvolumen, in dem diese O_2 -Menge gespeichert war. Die so ermittelten Werte sind um einen Faktor 2 bis 2.7 höher als die von uns ermittelten. Die Messungen erfolgten nicht, wie die von v. SLYKE et al. und unsere Messungen bei $37^\circ C$ sondern bei $17^\circ C$ - $19^\circ C$. Außerdem wurden nur wenige seiner Versuche mit frischem Blut ausgeführt. Diese Tatsache sowie die niedrige Temperatur führen zur Reduzierung energieverbrauchender Prozesse. Eine mögliche Folge davon ist die gegenüber den anderen experimentell gewonnenen Daten große pH-Abhängigkeit des Zellvolumens. Diese Abhängigkeit kommt den theoretisch gewonnenen Werten nahe, was bedeutet, daß sich die Zellen in ihrem Verhalten dem eines 'perfekten Osmometers' (PONDER, 1955) nähern.

Die Tatsache, daß sich bei den Messungen mit frischem Blut (v. SLYKE, eigene Messungen) als Folge der CO_2 -Aufnahme eine Volumenveränderung ergibt, die kleiner ist als die theoretisch geforderte, steht in Einklang mit Beobachtungen, die bei Versuchen gemacht wurden, bei denen durch äußere Veränderungen des osmotischen Druckes

im Plasma (Zugabe von Salzen bzw. von hypo- bzw. von hypertonen Lösungen) eine Änderung des Zellvolumens hervorgerufen wurde. (Zusammenstellung der Daten verschiedener Autoren s. DICK, 1971). PONDER (1955) gibt an, daß sich die gemessenen und die theoretisch geforderten Volumenveränderungen der Zellen bis zu 50 % unterscheiden. Die hier als Folge der CO_2 -Aufnahme bestimmten Volumenänderungen betragen $1/2$ bis $1/3$ des theoretisch geforderten Wertes, je nachdem welche der beiden genannten theoretischen Berechnungen man zugrunde legt.

Da sich aus den Messungen von v. SLYKE et al. (1923) mit Hilfe einer anderen Methode ähnliche Werte für die Volumenveränderung der Erythrozyten finden wie mit der Widerstandsmessung, sind methodisch und meßtechnisch bedingte Gründe für diese Diskrepanz nicht zu vermuten.

Als mögliche Erklärung für die Diskrepanz zwischen Theorie und Messung ist vielfach angegeben worden, daß im Erythrozyten ein Teil des Wassers in gebundener Form vorliegt (DRABKIN, 1950, PONDER, 1955, SAVITZ, SIDEL und SOLOMON, 1964). Damit steht nur ein Teil des Wassers als Lösungsraum für Substanzen und für Austauschprozesse zur Verfügung (solvent water). Nach DRABKIN (1950) liegen 84 %, nach SAVITZ, SIDEL und SOLOMON (1964) etwa 80 % des Wassers als solvent water vor. Nach dieser Hypothese sind Volumenverschiebungen, die weniger als 80 bzw. 84 % des theoretischen Wertes betragen, nicht erklärbar. Es sind also zusätzliche Mechanismen anzunehmen.

Nimmt man unterschiedliche Aktivitätskoeffizienten für den Intra- und Extrazellularraum an, so ist die osmotische Wirksamkeit eines Teilchen im Innern der Zelle kleiner als im Außenraum. Die Annahme unterschiedlicher Aktivitätskoeffizienten auf Grund einer unterschiedlichen Ionenstärke im Erythrozyten und im Plasma benutzen FUNDER und WIETH (1966) sowie SIGGAARD-ANDERSEN (1972) zur Erklärung der Tatsache, daß sich aus Messungen verschiedener Untersucher (v. SLYKE et al., 1925, HENDERSON, 1932, PLATTS und GREAVES, 1957, FITZSIMONS und SENDROY, 1961, FUNDER und WIETH, 1966, STEEN und TURITZIN, 1972) eine Diskrepanz zwischen der intra- und extra-

zellulären Wasserstoffionenverteilung und der Chloridverteilung ergibt; die Ionen verteilen sich nicht so wie es für eine Donnanverteilung zu fordern ist. Die Messungen ergeben einen größeren Donnanfaktor für Chlorid ($r_{Cl^-} = Cl^-_c / Cl^-_p$) als für die Wasserstoffionen ($r_{H^+} = H^+_p / H^+_c$); dabei zeigt sich für die Chloridverteilung r_{Cl^-} eine geringere pH-Abhängigkeit als für die Wasserstoffionenverteilung r_{H^+} (FITZSIMONS und SENDROY, 1961, STEEN und TURITZIN, 1972). Nimmt man unterschiedliche Aktivitätskoeffizienten für den Zell- und den Plasmaraum an, so wird eine gegenüber den theoretischen Ansätzen geringere osmotisch bedingte Volumenverschiebung bei Veränderung des pH-Wertes sich ergeben.

Es ist postuliert worden, daß die Erythrozytenmembran in der Lage sei, Kräfte aufzunehmen und daß sie so einer Formveränderung des Erythrozyten entgegenwirken könne. Das hätte zur Folge, daß Veränderungen des osmotischen Druckes nur teilweise als entsprechende Volumenverschiebung sich auswirken (ØRSKOW, 1946, TEORELL, 1952). Ein Modell einer Membran, die derartige Eigenschaften hat, gibt SIRS (1972): Sie besteht aus starren Elementen, die durch flexible, elastische Verbindungen zusammengehalten werden. Damit eine solche Membran gegen einen Innendruck ihre Form erhalten kann, muß Energie aufgewendet werden. Daß in den oben beschriebenen Versuchen von WARBURG (1922) die Blutzellen osmotischen Veränderungen im Plasma durch entsprechende Volumenveränderungen folgten, ist möglicherweise eine Folge eines reduzierten Energieverbrauchs der Zellen auf Grund der niedrigen Temperatur und auf Grund des Alters des untersuchten Blutes.

Untersuchungen in vivo wurden von v. BEAUMONT und ROCHELLE (1973) durchgeführt. Sie bestimmten während Muskularbeit das mittlere Erythrozytenvolumen im venösen Blut, um auf diese Weise das Schwellen der Erythrozyten auf Grund der CO_2 -Aufnahme zu messen. Sie finden bei diesen Untersuchungen ein konstantes Zellvolumen, im Gegensatz zu COSTILL, BRANAM, EDDY und FINK (1974), die bei einem ähnlichen Versuch eine Zunahme des Zellvolumens messen. Da während Körperarbeit eine Vielzahl von Parametern neben dem CO_2 -Partialdruck und dem pH-Wert die Osmolarität des Plasmas beeinflussen (Wasser-einstrom in das Gewebe auf Grund des erhöhten osmotischen Druckes

im Gewebe oder auf Grund eines erhöhten Filtrationsdruckes, Eintritt von Metaboliten (z.B. Milchsäure) in das Plasma), wird die Deutung der Ergebnisse der Messungen in vivo unübersichtlich; sie sind daher für einen quantitativen Vergleich mit den Ergebnissen der in vitro-Messungen nur bedingt verwendbar.

5.2.2 Das transiente Verhalten der Säuren-Basen-Parameter und des elektrischen Widerstandes

5.2.2.1 Verlauf des p_{CO_2}

In Abbildung 33 sind die Ergebnisse der Messungen zum p_{CO_2} -Zeitverlauf nach Erhöhung des CO_2 -Gehaltes für Vollblut, Vollblut mit Acetazolamid und für isoliertes Plasma zusammengefaßt.

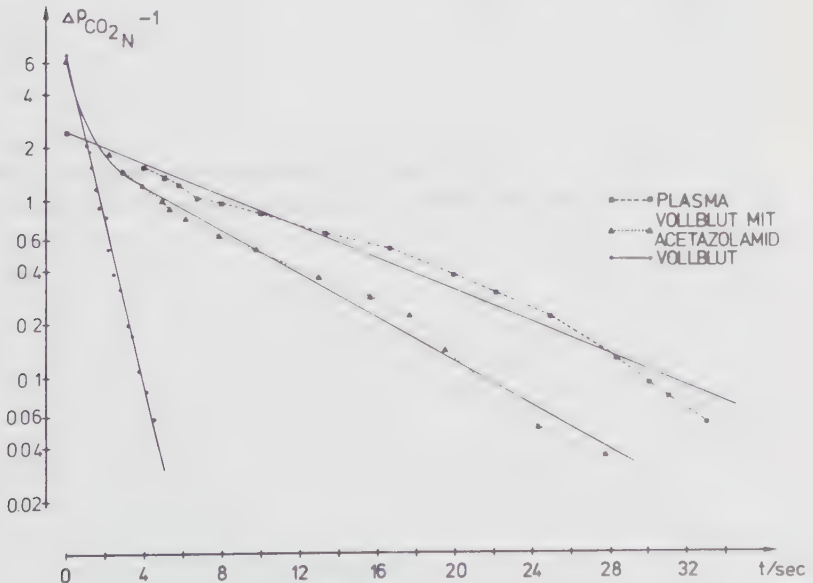


Abb. 33: Verlauf des CO_2 -Partialdruckes in halblogarithmischer Darstellung als Funktion der Reaktionszeit für Vollblut mit und ohne Acetazolamid und für isoliertes Plasma. Die Normierung erfolgte, wie in Kap. 4.4.1 beschrieben.

Aus der halblogarithmischen Darstellung für die normierten Zeitverläufe findet man für Blut und Plasma monoexponentielle Zeitverläufe und für Blut mit Kohlensäureanhydratasehemmung eine biexponentielle Zeitfunktion. Die Normierung erfolgte wie in Kap. 4.4.1 beschrieben (Ausgangswert $\Delta p_{\text{CO}_2 \text{ N}}(t < 0) = 0$, Endwert $\Delta p_{\text{CO}_2 \text{ N}}(t \rightarrow \infty) = 1$).

Die Approximation der Zeitverläufe ist möglich durch folgende Funktionen (errechnet durch lineare Regression bzw. 'peeling-Verfahren') (s. Methodik):

Vollblut:
$$f(t) = \Delta p_{\text{CO}_2 \text{ N}} - 1 = 5.85 e^{-t/0.93}$$

Plasma:
$$f(t) = \Delta p_{\text{CO}_2 \text{ N}} - 1 = 2.15 e^{-t/9.55}$$

Blut mit Acetazolamid:
$$f(t) = \Delta p_{\text{CO}_2 \text{ N}} - 1 = 2.09 e^{-t/6.99} + 4.58 e^{-t/0.68}$$

Die Bestimmung der in Abbildung 33 eingetragenen Amplitudenwerte für $t = 0$ erfolgte mit Hilfe der Annahme, daß zu diesem Zeitpunkt das durch die Begasung zugeführte CO_2 vollständig in physikalischer Lösung vorliegt, d.h.

$$\Delta [\text{CO}_2]_{\text{ges}} = \alpha \cdot \Delta p_{\text{CO}_2}$$

Für Blut gilt dabei

$$\alpha = \alpha_p (1 - \text{HT}) + \alpha_c \cdot \text{HT}$$

α_p = Löslichkeit von CO_2 im Blutplasma bei 37°C

α_c = Löslichkeit von CO_2 in den Erythrozyten bei 37°C .

Diese Annahme stellt eine Idealisierung dar, da die Begasung des Blutes mit gasförmigem CO_2 eine bestimmte Zeit erfordert. Zur

Unsicherheit der Definition der Zeitnullpunktes wurde bereits in Kap. 5.1.6 Stellung genommen.

Da aus der Messung des Zeitverlaufes bei Blut mit Acetazolamid für kleine Zeiten nur eine geringe Anzahl von Meßpunkten vorliegt, ist die Bestimmung der kleineren der beiden Zeitkonstanten wie auch die Bestimmung des entsprechenden Bewertungsfaktors durch das 'peeling-Verfahren' mit Fehlern behaftet. Die Werte sind als Näherungswerte anzusehen.

Im Gegensatz zu den Messungen in Vollblut und in isoliertem Plasma zeigt sich für den p_{CO_2} -Zeitverlauf in Blut mit Kohlensäureanhydratasehemmung ein biexponentieller Zeitverlauf. Als mögliche Ursache für den anfänglichen schnellen Abfall ist die Bindung des CO_2 an die Aminogruppen des Hämoglobins zu diskutieren. Nach FORSTER et al. (1968) beträgt die Halbwertszeit dieser Reaktion nur 42 ms. Diese Daten wurden allerdings in Hämoglobininlösungen ermittelt. In Vollblut ist mit einem demgegenüber größeren Zeitbedarf zu rechnen, da Vorgänge wie die Diffusion des CO_2 zwischen dem Intra- und dem Extrazellulärraum den Zeitablauf beeinflussen. Daß sich für Vollblut ohne Hemmung der Kohlensäureanhydratase ein monoexponentieller Abfall ergibt, ist dann darauf zurückzuführen, daß die katalysierte Hydratisierungsreaktion im Innern der Erythrozyten für den gesamten Zeitablauf dominierend wird.

Messungen zur Kinetik der CO_2 -Aufnahme des Blutes sind von CONSTANTINE, CRAW und FORSTER (1965) und von HOLLAND und FORSTER (1965) beschrieben worden. In einer modifizierten Hartridge-Roughton-Anordnung führen diese Untersucher eine Erythrozytensuspension und eine Bikarbonat-Kochsalz-Lösung mit einem höheren CO_2 -Partialdruck zusammen. Nach der Mischung der Lösungen zeigt sich in den ersten 100 ms ein schneller Abfall des CO_2 -Partialdruckes; eine mögliche Ursache ist die Carbaminoreaktion. Messungen in diesem Zeitbereich können mit unserer Meßapparatur nicht durchgeführt werden, ein Vergleich dieser Angaben mit unseren Messungen ist somit nicht möglich. Dem anfänglichen schnellen Absinken folgt ein langsamer Abfall, die Zeit zur Erreichung von 95 % des Endwertes beträgt bei 42°C nach den Messungen von HOLLAND und FORSTER (1975) 1 bis 1.2 sec. Aus unseren Messungen ergibt sich bei 37°C ein Wert von 2.6 sec.

Die unterschiedliche Temperatur kann diesen Unterschied in den Meßwerten teilweise begründen. Weitere methodisch bedingte Unterschiede werden im Zusammenhang mit den Messungen zum pH-Verlauf diskutiert.

5.2.2.2 Verlauf des pH-Wertes

Für den pH-Zeitverlauf in isoliertem Plasma findet man einen kontinuierlichen Abfall auf den Endwert. Die Zeitfunktion für die Wasserstoffionenkonzentration entspricht in etwa dem Zeitverlauf des CO_2 -Partialdruckes. Wie bereits bei der Darstellung der Ergebnisse erwähnt, zeigt sich für Vollblut mit oder ohne Acetazolamid ein geknickter Zeitverlauf. Eine mögliche Deutung dieses Tatbestandes als Überlagerung zweier Vorgänge wurde bereits gegeben:

1. Entstehung von H^+ -Ionen aus der Hydratisierung im Plasmaraum
2. Bindung von H^+ -Ionen durch HCO_3^- -Ionen, die aus dem Erythrozyten in den Plasmaraum eintreten.

Im folgenden sollen die Zeitverläufe der Wasserstoffionenkonzentration in isoliertem Plasma und in Vollblut mit und ohne Acetazolamid untereinander verglichen werden. Dazu wird die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration für eine Erhöhung der Gesamtmenge an CO_2 um $2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ bestimmt. Diese Normierung ist mit Hilfe des Nomogramms von SINGER und HASTINGS (1948) möglich: Für die einzelnen Meßflüssigkeiten ist die Pufferbase bekannt (s. Tabelle, 2, 3 und 4). Da bei den hier vorliegenden rein respiratorischen Veränderungen der Säuren-Basen-Werte die Pufferbase konstant ist, läßt sich ausgehend von einem vorgegebenen Anfangs-pH-Wert der neue Endwert des pH bestimmen für die vorgegebene Veränderung des CO_2 -Gehaltes. Die Ergebnisse zeigt Abbildung 34. Die Werte wurden bezogen auf die Änderung von $[\text{H}^+]$ in isoliertem Plasma.

Für Vollblut (mit und ohne Acetazolamid) beträgt wegen der Pufferwirkung der intraerythrozytären Puffer und dabei insbesondere des Hb die Gesamtveränderung der Wasserstoffionenkonzentration nur etwa $1/3$ der Änderung in isoliertem Plasma. Auf Grund der Anwesenheit der Erythrozyten erreicht die Wasserstoffionenkonzentration im Plasma von Vollblut mit und ohne Acetazolamid den Endwert früher als in isoliertem Plasma. Die Zeit, in der $\Delta[\text{H}^+]$ auf 95 %

des Endwertes angestiegen ist, zeigt die folgende Aufstellung:

Vollblut	$T_{95} = 1.45 \text{ sec}$
Vollblut mit Acetazolamid	$T_{95} = 7.4 \text{ sec}$
isoliertes Plasma	$T_{95} = 22.2 \text{ sec}$

Auffällig ist, daß auch für Blut mit Hemmung der Kohlensäureanhydratase der Endwert schneller erreicht wird als für isoliertes Plasma. Auch in diesem Falle zeigt der pH-Wert einen geknickten Zeitverlauf (Abb. 32).

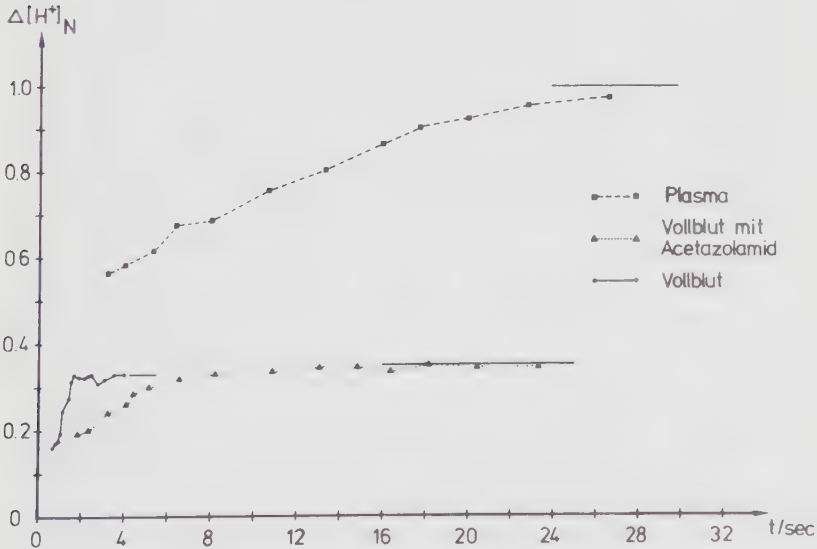


Abb. 34: Verlauf der Änderung der Wasserstoffionenkonzentration nach einer Erhöhung des CO_2 -Gehaltes um 2 mmol l^{-1} als Funktion der Reaktionszeit für Vollblut, Vollblut mit Acetazolamid und für isoliertes Plasma. Die Werte sind bezogen auf die Änderung von $[H^+]$ für isoliertes Plasma.

Die oben gegebene Deutung sagt, daß eine Ursache eines solchen Zeitverlaufs darin besteht, daß HCO_3^- aus dem Zellinnern in den Plasmaraum eintritt. Das Bikarbonat folgt einem Konzentrationsgradienten, der dadurch entsteht, daß wegen der besseren Pufferung innerhalb der Erythrozyten dort mehr CO_2 hydratisiert wird als im Plasmaraum. Eine weitere mögliche Ursache für die vermehrte HCO_3^- -Bildung im Zellinnern liegt darin, daß auch nach Hemmung der Kohlendensäureanhydratase noch andere katalytisch wirkende Substanzen vorhanden sind. ROUGHTON (1969) nennt eine Anzahl solcher Stoffe, die im Blut eine katalytische Wirkung ausüben können (HPO_4 , Histidin).

Messungen zum Zeitverlauf des pH-Wertes wurden von CRANDELL, KLOCKE, und FORSTER (1971), FORSTER (1972) und FORSTER und CRANDELL (1972, 1975) beschrieben. Die Messungen wurden in einer stopped-flow-Anordnung durchgeführt: Eine Erythrozytensuspension und eine erythrozytenfreie Lösung werden mit hoher Geschwindigkeit zusammengeführt, der Strom wird dann plötzlich gestoppt und der Zeitverlauf des pH-Wertes wird gemessen. Die Halbwertszeit T_{50} für die Einstellung des neuen pH-Wertes ergibt sich nach FORSTER und CRANDELL (1975) zu 3,5 sec. In unseren Messungen ist die Halbwertszeit wesentlich kürzer, sie beträgt 0,7 sec. Außerdem zeigt sich in den Ergebnissen von FORSTER et al. ein kontinuierlicher Zeitverlauf und nicht, wie in unseren Messungen, ein geknickter.

Verschiedene Ursachen für die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der Messungen zum pCO_2 - und zum pH-Verlauf sind zu diskutieren:

1. Da unter den Bedingungen des stopped-flow-Experiments der pH-Wert im stillstehenden Medium gemessen wird, ist es möglich, daß wegen der fehlenden Konvektion der Austausch zwischen Erythrozyten und umgebender Flüssigkeit verlangsamt wird, da Konzentrationsgradienten sich in der Umgebung der Erythrozyten aufbauen für alle Stoffe, für die ein Austausch zwischen Intra- und Extrazellulärraum stattfindet.
2. Die Messungen der genannten Autoren erfolgen in Erythrozytensuspensionen mit einem Hämatokritwert von 2,25 % bis 9 %. Diese Tatsache mag insbesondere für die Ergebnisse der pH-Messung von Bedeutung sein: Aus unseren Messungen in Vollblut

(mittlerer Hämatokritwert 34 %) ergibt sich für den pH-Wert ein geknickter Zeitverlauf, der als Folge des Bikarbonataustausches gedeutet wurde. Bei Verringerung der Anzahl der Erythrozyten in der Lösung wird dieser Einfluß des Intrazellularraumes auf den pH-Verlauf kleiner werden, bis sich, wie die Messungen in isoliertem Plasma zeigen, ein kontinuierlicher Abfall des pH-Wertes nach Erhöhung des CO_2 -Druckes ergibt.

Weiterhin ist wegen der geringen Zahl der Zellen die katalytische Wirkung, die die Zellen wegen ihres Kohlensäureanhydratasegehaltes auf den Hydratationsvorgang ausüben, verringert.

3. In den genannten Untersuchungen wurden in allen Fällen 2 Lösungen zusammengeführt, die sich in mindestens 2 Parametern, nämlich in ihrem CO_2 -Partialdruck und in ihrer Wasserstoffionenkonzentration unterscheiden. Es wird gleichzeitig eine respiratorische und eine metabolische Störung erzeugt. Bei der Einstellung eines thermodynamischen Gleichgewichtes nach Mischung dieser Lösungen werden verschiedene Ausgleichprozesse überlagert sein. Da bei unseren Versuchen das CO_2 in Gasform zugeführt wird, wird primär nur der CO_2 -Partialdruck verändert (rein respiratorische Störung).

Wie ein Vergleich der Daten untereinander zeigt, ergibt sich aus allen Untersuchungen übereinstimmend, daß die Säuren-Basen-Parameter nach der Zugabe von CO_2 ihren Endwert erst innerhalb einiger Sekunden erreichen, obwohl die Hydratisierungsaktion durch die Kohlensäureanhydratase katalysiert wird. Für die Wirkung dieses Enzyms gibt ROUGHTON (1964) an, daß die Reaktionsgeschwindigkeit um das etwa 13 000 fache erhöht wird. Messungen von FORSTER und CRANDELL (1975) zeigen, daß nach Zugabe von Kohlensäureanhydratase zur Extrazellularflüssigkeit des Blutes die CO_2 -Aufnahme in einer Zeit < 20 ms abgeschlossen ist.

Die Ursache für die demgegenüber langsame Einstellung des Gleichgewichtes ist der Tatsache zuzuschreiben, daß das Blut aus zwei Kompartimenten mit unterschiedlichen Puffereigenschaften besteht und daß die Katalyse der Hydratisierungsreaktion des CO_2 nur im Intrazellularraum erfolgt. Das hat zur Folge, daß bei der CO_2 -Aufnahme Austauschprozesse zwischen den Kompartimenten erfolgen (Hamburger-Shift, Wasser-Shift), deren zeitlicher Ablauf Einfluß

nimmt auf den Verlauf der Einstellvorgänge der Säuren-Basen-Parameter.

Messungen zum Zeitbedarf des Bikarbonat-Chlorid-Austausches sind von verschiedenen Autoren durchgeführt worden (DIRKEN und MOOK, 1932, LUCKNER, 1939, TOSTESON, 1959, PIIPER, 1964, KLOCKE, 1976). Die gemessenen Werte schwanken in einem Bereich von $T_{90} = 0.13$ bis 1.4 sec. SCHULTEHINRICHS, VOGEL und THEWS (1968) messen den Zeitverlauf des Bohr-Effektes, also den Zeitverlauf der O_2 -Sättigung nach einem CO_2 -Sprung und nehmen an, daß der zeitbestimmende Faktor für diesen Prozeß der Hamburger-Shift ist. Sie geben eine Zeit von 2.6 sec an für die Erreichung von 75 % des Endwertes. Aus unseren Messungen ergibt sich für den CO_2 -Partialdruckverlauf ein T_{75} von 2.3 sec.

Bei den Messungen von SCHULTEHINRICHS, VOGEL und THEWS (1968) wurde wie bei unseren Messungen das CO_2 in Gasform zugegeben, im Gegensatz zu den oben genannten Messungen (außer Luckner), bei denen das CO_2 in einer Flüssigkeit gelöst zugegeben wurde. Möglicherweise ist diese Tatsache für die Erklärung der Diskrepanzen zwischen den einzelnen Meßergebnissen von Bedeutung, da bei der Zugabe von CO_2 , das in einer Flüssigkeit gelöst ist, auch Ungleichgewichte für andere gelöste Substanzen nicht vermeidbar sind, so daß sich also verschiedene Ausgleichprozesse überlagern, die sich möglicherweise wieder gegenseitig beeinflussen.

Die Vergleichbarkeit des Zeitbedarfs für den Hamburger Shift nach den Messungen von SCHULTEHINRICHS et al. mit dem Zeitbedarf für den Abfall des CO_2 -Partialdruckes, d.h. für die Überführung des physikalisch gelösten in chemisch gebundenes CO_2 zeigt die Bedeutung des Hamburger Shiftes für den Einstellprozeß. Man kann diese Übereinstimmung des Zeitbedarfs als Hinweis darauf benutzen, daß die Bildung des Bikarbonat aus dem in physikalischer Lösung vorliegenden CO_2 mit der Geschwindigkeit erfolgt, mit der das Bikarbonat den Intrazellularraum verläßt.

Die Wasserverschiebung über die Zellmembran ergibt sich als der langsamste Zeitprozeß; das endgültige thermodynamische Gleichgewicht ist erst erreicht nach Abschluß dieses Prozesses. Da aber die Netto-Wasserverschiebung über die Membran klein bleibt, wie

die steady-state-Kennlinien zeigen, sind auch die dadurch entstehenden Änderungen in der ionalen Zusammensetzung der beiden Kompartimente des Blutes klein. Aus diesem Grunde ist anzunehmen, daß der Wasser-Shift den großen Zeitbedarf für den Einstellvorgang der Säuren-Basen-Parameter nur teilweise begründen kann.

FORSTER und CRANDELL (1975) vergleichen die Ergebnisse ihrer Messungen in einer Erythrozytensuspension mit einem Hämatokritwert von 2.25 % mit den Ergebnissen einer theoretischen Modellbetrachtung. Für die Halbwertszeit ergibt sich aus dem Modell ein Wert von 5.5 sec, aus der Messung ein Wert von 3.5 sec. Sie erweitern das Rechenmodell dann für die Anwendung auf Vollblut mit einem Hämatokritwert von 40 %. Nach diesen Berechnungen erreicht der pH-Wert des Plasmas erst nach mehr als 50 Sekunden seinen Endwert. Als verantwortlich für diesen großen Zeitbedarf nennen die Autoren den Zeitbedarf der unkatalysierten Hydratisierungsreaktion im Plasma. Das Ergebnis dieser Rechnung steht im Gegensatz zu unseren Meßergebnissen an Vollblut, bei dem wir eine Halbwertszeit für den pH-Wert von $T_{50} = 0.7$ sec finden. Nach der von uns gegebenen Deutung wird der Zeitverlauf für den pH-Wert des Plasmas sowohl durch die unkatalysierte Hydratisierungsreaktion im Plasma wie durch den HCO_3^- -Ausstrom aus der Zelle bestimmt. Die Überlagerung der beiden Prozesse führt zu einem Zeitverlauf, bei dem der Endwert innerhalb von etwa 1.5 Sekunden erreicht ist.

5.2.2.3 Verlauf des Widerstandes

Die Meßwerte für den transienten Verlauf des elektrischen Widerstandes für Vollblut und für Vollblut mit Acetazolamid zeigt die Abbildung 35 in halblogarithmischer Darstellung.

Aus dem Zeitverlauf des elektrischen Widerstandes ergibt sich der Zeitverlauf, nach dem sich das Volumen der Erythrozyten als Folge eines Wassereinstromes verändert. Diese Volumenveränderung ist identisch mit der in den Erythrozyten einströmenden Wassermenge. Aus der Ableitung des Widerstandsverlaufs nach der Zeit ergibt sich demnach die Wassermenge, die je Zeiteinheit durch die Membran hindurchtritt, also der Wasserflux.

Der Zeitverlauf des Widerstandes für Blut mit oder ohne Acetazolamid ist in den ersten 8 Sekunden in etwa gleich, obwohl die Zeitverläufe des pH-Wertes und des CO_2 -Partialdruckes sich in den beiden Versuchsreihen unterscheiden. Die Veränderung des Widerstandes ist in dieser Zeit zu 75 % abgeschlossen. Diese Beobachtung läßt vermuten, daß in beiden Fällen der gleiche Mechanismus zeitbestimmend ist.

Der Widerstandsverlauf läßt sich für die beiden untersuchten Substanzen im Zeitbereich $0 \leq T \leq 8$ sec durch eine monoexponentielle Funktion annähern. Die Zeitkonstante beträgt 6.55 sec. Für den Wasserflux ergibt sich damit ebenfalls eine monoexponentielle Funktion. Der Flux ist anfänglich groß, durch den Wassereinstrom wird die osmotische Druckdifferenz verringert und dementsprechend verkleinert sich dann der Wassereinstrom in die Zelle.

Wegen der Tatsache, daß der Wassereinstrom in die Zelle für Blut mit und ohne Kohlensäureanhydratasehemmung dem gleichen Zeitverlauf folgt, läßt vermuten, daß die Durchlässigkeit der Membran für Wasser diesen Zeitprozeß bestimmt. Die Prüfung dieser Hypothese durch Vergleich mit den Ergebnissen anderer Autoren zur Untersuchung der Wasserpermeabilität der Erythrozytenmembran erweist sich dabei als schwierig, da in unseren Messungen die osmotische Druckdifferenz über der Membran zeitlich nicht konstant ist. Der Zeitverlauf des osmotischen Druckes im Intra- und Extrazellularraum wird durch diverse Zeitprozesse mitbestimmt, die ihrerseits wieder miteinander verkoppelt sind: Unterschiedlicher Verlauf der Hydratisierungsreaktion des CO_2 im Erythrozyten und im Plasma, Austausch von Bikarbonationen und Chloridionen zwischen Intra- und Extrazellularraum, Wasserverschiebung zwischen den beiden Räumen.

Theoretische und experimentelle Untersuchungen zum Wasseraustausch über Membranen sind von verschiedenen Autoren durchgeführt worden, zunächst für die Membran der peripheren Kapillaren (PAPPENHEIMER, RENKIN und BORRERO, 1951) und dann auch für die Erythrozytenmembran (SOLOMON, 1960, DICK, 1972).

Die Permeabilitätsbestimmungen der Membran erfolgen dabei in der Regel dadurch, daß durch Zugabe osmotisch wirksamer Substanzen der

osmotische Druck im Außenraum sprunghaft verändert wird. Da der Zeitverlauf der osmotischen Druckdifferenz in unseren Messungen nur mit Hilfe weitergehender Untersuchungen bestimmt werden kann, ist im augenblicklichen Zeitpunkt ein Vergleich mit diesen Messungen nicht möglich. Das Ziel weiterer Untersuchungen wird es sein, den zeitlichen Verlauf der ionalen Zusammensetzung des Intra- und des Extrazellularraumes und damit den Verlauf der osmotischen Druckdifferenz während der CO_2 -Aufnahme zu bestimmen.

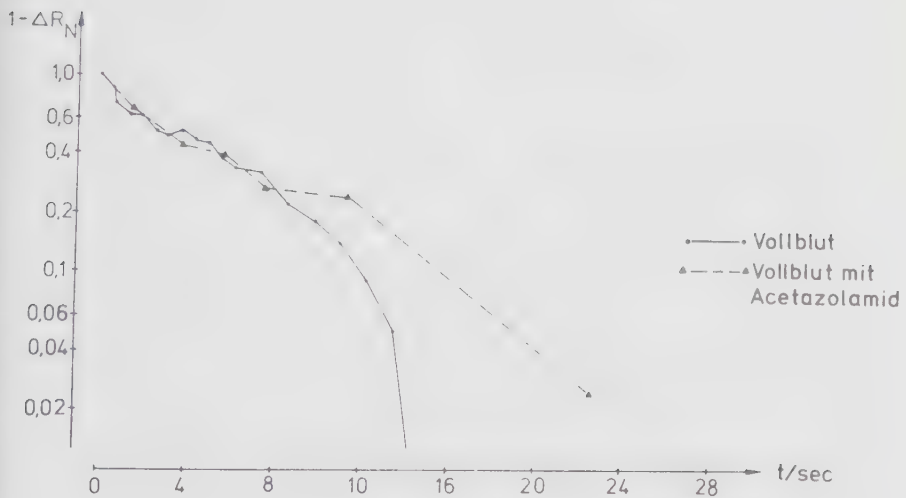


Abb. 35: Verlauf der Widerstandsveränderung in halblogarithmischer Darstellung als Funktion der Reaktionszeit für Vollblut und für Vollblut mit Acetazolamid.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Bindung von CO_2 im Blut nimmt im Innern der Erythrozyten die Zahl der osmotisch wirksamen Teilchen stärker zu als im Blutplasma. Die dadurch entstehende osmotische Druckdifferenz bewirkt einen Wassereinstrom in das Zellinnere (v. SLYKE et al., 1923, HENDERSON, 1932). Die Folge davon ist ein Schwellen der Erythrozyten und damit eine Änderung des relativen Zellanteils - also des Hämatokritwertes.

Die Messung des Hämatokritwertes erfolgt mit Hilfe einer Bestimmung des elektrischen Widerstandes eines bestimmten Blutvolumens. Die Anwendung dieses Meßverfahrens ist möglich, weil die Erythrozytenmembran isolierende Eigenschaften besitzt und der Widerstand des Blutes somit abhängt vom Volumenanteil, den die Zellen am Gesamtraum annehmen und vom Widerstand des umgebenden Plasmas (MAXWELL, 1893, FRICKE, 1924, 1925 a). Um die Einflüsse dieser beiden Größen auf den Widerstand trennen zu können, wird die Abhängigkeit des elektrischen Widerstandes von den Säuren-Basen-Parametern pH und p_{CO_2} als Folge einer Veränderung des CO_2 -Gehaltes für Vollblut, für isoliertes Plasma und für wahres Plasma bestimmt. Es ergibt sich für isoliertes Plasma und für wahres Plasma mit steigendem CO_2 -Partialdruck eine geringe Abnahme des Widerstandes als Folge einer Zunahme der Ladungsträger. Für Vollblut findet sich eine Widerstandszunahme, deren Hauptursache das Schwellen der Erythrozyten ist. Die so gewonnenen Kennlinien des Zellvolumens als Funktion des pH-Wertes und des CO_2 -Partialdruckes sind mit den Meßergebnissen v. SLYKE et al. (1923) vergleichbar. Die gemessenen Volumenverschiebungen sind kleiner als es aus theoretischen Modellbeschreibungen zu erwarten ist (v. SLYKE et al., 1923, MÜCKENHOFF, 1973). Diese Diskrepanz wurde auch bei anderen Versuchen beobachtet, bei denen durch Zugabe osmotisch wirksamer Substanzen zum Plasma eine Wasserverschiebung zwischen Zell- und Plasmaraum ausgelöst wurde (Zusammenstellung der Daten verschiedener Autoren s. DICK, 1971).

Die Untersuchung des Zeitverlaufes des CO_2 -Partialdruckes bei der Aufnahme von CO_2 erfolgt mit Hilfe eines neuentwickelten CO_2 -

Elektrodensystems: Die Meßelektrode ist als membranbespannte pH-Elektrode aufgebaut (STOW und RANDALL, 1954, STOW, BAER und RANDALL, 1957, GERTZ und LOESCHKE, 1958). Der Zusammenhang zwischen CO_2 -Partialdruck und elektrischer Spannung wird durch Verwendung einer Antilogarithmierschaltung linearisiert. Die Einstellzeit T_{95} der Elektrode beträgt wegen der langsamen Diffusions- und Hydratisierungsvorgänge etwa 11.5 sec. Um die Einstellzeit zu verkürzen, wird ein elektrisches Netzwerk nachgeschaltet, das einen Frequenzgang hat, der in einem weiten Bereich dem Elektrodenfrequenzgang invers ist. Dadurch wird der Frequenzgang der Gesamtanordnung linearisiert. Die Verwendung dieser Anordnung verringert die Einstellzeit auf etwa 750 ms. Wird durch Zugabe von Kohlen-säureanhydratase die Hydratisierungsreaktion des CO_2 beschleunigt, so wird die Einstellzeit T_{95} zu 200 ms.

Bei Messungen in strömenden Flüssigkeiten bildet sich vor der Elektrodenoberfläche eine hydrodynamische Grenzschicht aus, die die Einstellzeit vergrößert. Der Einfluß der Grenzschicht wurde bei paralleler und senkrechter Anströmung der Elektrode experimentell und theoretisch untersucht. Dabei wurde zur experimentellen Untersuchung ein zweites unabhängiges Meßverfahren entwickelt, bei dem der CO_2 -Zeitverlauf aus dem Auswaschvorgang von Farbstofflösungen aus dem Raum vor der Elektrode ermittelt wird.

Zur Untersuchung des dynamischen Verhaltens der Säuren-Basen-Parameter und des Widerstandes wird in Vollblut, in isoliertem Plasma sowie in Vollblut mit Kohlensäureanhydratasehemmung in einer der Anordnung von HARTRIDGE und ROUGHTON (1923) ähnelnden Apparatur der CO_2 -Gehalt erhöht. Dabei wird das CO_2 in Gasform zugeführt, um eine rein respiratorische Störung des Säuren-Basen-Gleichgewichtes zu ermöglichen. Die Messung ergibt in Übereinstimmung mit den Messungen von CONSTANTINE, CRAW und FORSTER (1965), daß der Einstellvorgang des CO_2 -Partialdruckes erst nach einigen Sekunden beendet ist.

Die Messungen zum Zeitverlauf des pH-Wertes im Vollblut ergeben anders als die Messungen von FORSTER und CRANDELL (1975) in Erythrozytensuspensionen einen geknickten Zeitverlauf, der von uns

gedeutet wird als die Überlagerung zweier Zeitprozesse: 1. die Entstehung von H^+ -Ionen aus der Hydratisierung von CO_2 im Plasma und 2. die Abgabe von Bikarbonationen aus dem Zellinnern über den Bikarbonat-Chlorid-Austausch. Als wesentlich für den Zeitbedarf der Einstellung des Säuren-Basen-Gleichgewichts wird der Zeitbedarf des Hamburger-Shiftes angesehen.

Der elektrische Widerstand erreicht erst nach verhältnismäßig langer Zeit seinen Endwert und zwar für Vollblut mit und ohne Kohlensäureanhydratasehemmung ($T_{50} \approx 4$ sec). Als möglicher zeitbestimmender Faktor wird die Wasserdurchlässigkeit der Membran diskutiert.

7. LISTE DER SYMBOLE UND EINHEITEN

Symbol	Definition	Einheit	Zahlenwert
A	Amplitudenübertragungs- faktor		
[a]	Konzentration des Stoffes a	mmol l ⁻¹	
b _i	Beweglichkeit der Ionen- art i	cm ² · Ω	
$\bar{V}_B$	Menge des Blutes ursprüng- licher Zusammensetzung/ gesamte Flüssigkeitsmenge		
[CO ₂] _{ges}	CO ₂ -Gehalt je Liter Meß- flüssigkeit	mmol l ⁻¹	
[CO ₂] _{phys}	Menge des physikalisch gelösten CO ₂ je Liter Meß- flüssigkeit	mmol l ⁻¹	
C _i	Kapazität des i-ten Konden- sators		
D	Diffusionskoeffizient	cm ² sec ⁻¹	
d	Elektrodendurchmesser	mm	
F _c (jω)	Frequenzgang der Lineari- sierungsschaltung		
F _M (jω)	Frequenzgang des unkompen- sierten Meßsystems		
F _M '	Frequenzgang der Simulations- schaltung		

Symbol	Definition	Einheit	Zahlenwert
F_{CO_2}	volumetrische Fraktion des CO_2		
f_g	Grenzfrequenz	min^{-1}	
HT	Hämatokritwert des Blutes	%	
I_i	i-ter Impedanzwandler		
j	imaginäre Einheit	$(j^2 = -1)$	
K_{H_2O}	Diffusionsleitfähigkeit des Wassers für CO_2	$\frac{\text{ml } CO_2}{\text{min cm atm}}$	$1.13 \cdot 10^{-3}$
K_S	Diffusionsleitfähigkeit des Silikon für CO_2	$\frac{\text{ml } CO_2}{\text{min cm atm}}$	$1.39 \cdot 10^{-3}$
K'_1	scheinbare Dissoziations- konstante der Kohlensäure		$1.6 \cdot 10^{-4}$
n	Anzahl der Versuche		
$F_{CO_2}(j\omega)$	komplexe Frequenzfunktion des CO_2 -Partialdruckes		
pH_p	pH-Wert im Blutplasma		
pH_c	pH-Wert in den Erythrozyten		
pK'	negativer Logarithmus der scheinbaren Dissoziations- konstanten der Kohlensäure		6.3
$\dot{Q}$	Stromstärke	ml/sec	
R_i	Wert des Widerstandes i		

Symbol	Definition	Einheit	Zahlenwert
R_E	Elektrolytimpedanz	Ω	
R_{p_i}	Phasengrenzimpedanz der i-ten Phasengrenze	Ω	
r_B	spez. Widerstand des Blutes	$\Omega \text{ cm}$	
r_p	spez. Widerstand des Plasma	$\Omega \text{ cm}$	
r_{Cl^-}	Donnanfaktor f. Chloridionen		
r_{H^+}	Donnanfaktor f. Wasserstoff- ionen		
t	Zeit	sec	
T_{pH}	Zeit vom Reaktionsbeginn bis zur Messung für	sec	
T_{pCO_2}	pH, pCO_2 , Widerstand		
T_R			
T_i	Zeitkonstante	sec	
T'_i	Zeitkonstante der Simula- tionsschaltung	sec	
T_{95}	Zeit bis zur Erreichung von	sec	
T_{50}	95 %, 50 % des Endwertes		
$u(t)$	Zeitverlauf der elektrischen Spannung	V	
$u_{el}(t)$	Zeitverlauf der Spannung an der Elektrode	V	

Symbol	Definition	Einheit	Zahlenwert
$u_{\text{antilog}}(t)$	Zeitverlauf der Spannung nach Antilogarithmierung	V	
$u_{\text{comp}}(t)$	Zeitverlauf der Spannung nach Frequenzganglinearisierung	V	
$U(j\omega)$	komplexe Frequenzfunktion der elektrischen Spannung		
V_{CO_2}	Volumen der Meßanordnung bis zur Meßstelle für	ml	
V_{pH}	p_{CO_2} , pH, R		
V_R			
v	Strömungsgeschwindigkeit	cm/sec	
V	Verstärkungsgrad		
$x(t)$	Zeitfunktion		
$X(j\omega)$	komplexe Frequenzfunktion		
α	Löslichkeitskoeffizient des CO_2		
α_c	Löslichkeitskoeffizient des CO_2 in den Erythrozyten bei 37°C	mmol l^{-1} mm Hg	0.025
α_p	Löslichkeitskoeffizient des CO_2 im Blutplasma bei 37°C	mmol l^{-1} mm Hg	0.0308
γ	Formfaktor		
Δ	Differenz		

Symbol	Definition	Einheit	Zahlenwert
$\bar{\epsilon}$	Grenzschichtdicke	μ	
θ, θ'	Zeitkonstante		
μ^*	kinematische Viskosität	$\text{cm}^2 \text{sec}^{-1}$	
ξ	Schichtdicke	μ	
S	Volumenkonzentration		
φ	Phasenwinkel		
ω	Kreisfrequenz	sec^{-1}	

Indizes

A	Ausgangsgröße
E	Eingangsgröße
N	normiert
O	Größe zur Zeit $t < 0$
∞	Größe zur Zeit $t \rightarrow \infty$

8. LITERATURVERZEICHNIS

- ARNDT, H., H. BRINK, D.W. LÜBBERS und A.H.J. MAAS: Untersuchungen zur Stabilität, Empfindlichkeit und Linearität der P_{CO_2} -Elektrode.
Pflügers Archiv 288, 288-296 (1965).
- BEAUMONT v., W.: Red cell volume with changes in plasma osmolarity during maximal exercise.
J. Appl. Physiol. 35, 47-50 (1973).
- BEAUMONT, v., W. und R.H. ROCHELLE: Erythrocyte volume in acidified venous blood from exercising limbs.
Pflügers Archiv 343, 41-48 (1973).
- BRONSTEIN, I.N. und K.A. SEMENDJAJEW: Taschenbuch der Mathematik.
Frankfurt/M, Zürich (1956).
- CONSTANTINE, H.P., M.R. CRAW und R.E. FORSTER: Rate of the reaction of carbon dioxide with human red blood cells.
Am. J. Physiol. 208(4), 801-811 (1965).
- COSTILL, D.L., L. BRANAM, D. EDDY, und W. FINK: Alterations in red cell volume following exercise and dehydration.
J. Appl. Physiol. 37/6, 912-916 (1974).
- COUSIN, J.L., R. MOTAIS und F. SOLA: Transmembrane exchange of chloride with bicarbonate ion in mammalian red blood cells: Evidence for a sulphonamide-sensitive 'carrier'.
J. Physiol. 253, 385-399 (1975).
- CRANDELL, E.D., KLOCKE, R.A. und R.E. FORSTER: Hydroxyl ion movements across the human erythrocyte membrane. Measurements of rapid pH changes in red cell suspensions.
J. Gen. Physiol. 57, 664-683 (1971).
- CRANK, J.: The mathematics of diffusion.
At the Clarendon Press Oxford, (1956).
- CRAW, M., H.P. CONSTANTINE, I.A. MORELLO und R.E. FORSTER: Rate of the Bohr shift in human red cell suspension.
J. Appl. Physiol. 18/2, 317-324 (1963).
- DICK, D.A.T.: Water movements in cells, S. 211-250,
In: Membrane and ion transport, Vol. 3
Ed. E. Bittar, Wiley-Interscience London, New York, Sidney, Toronto (1971).

- DIRKEN, M.N.J. und H.W. MOOK: Rate of gas exchange between blood cells and serum.
J. Physiol. 73, 349-360 (1931).
- DOETSCH, G.: Handbuch der Laplace-Transformation I, II und III.
Birkhäuser, Basel (1950, 1955, 1956).
- DONNAN, F.G.: Theorie der Membrangleichgewichte und Membranpotentiale bei Vorhandensein von nicht dialysierenden Elektrolyten.
Z. Elektrochem. 17, 572-581 (1911).
- DRAKIN, D.L.: Spectrophotometric studies.XV. Hydratation of macro sized crystals of human hemoglobin and osmotic concentration in red cells.
J. Biol. Chem. 185, 231-245 (1950).
- EDGERTON, R.H.: Conductivity of sheared suspensions of ellipsoidal particles with application to blood flow.
IREE Transactions on biomed. Eng.
BME 21(1), 33-43 (1974).
- FITZSIMONS, E.J. und J. SENDROY: Distribution of electrolytes in human blood.
J. Biol. Chem. 236 (5), 1595-1601 (1961).
- FORSTER, R.E., H.P. CONSTANTINE, M.R. CRAW, H.H. ROTMAN und R.A. KLOCKE: Reaction of CO_2 with hemoglobin solution.
J. Biol. Chem. 243, 3317-3326 (1968).
- FORSTER, R.E.: Interactions of CO_2 and O_2 exchange in red cells, S. 485-507.
In: Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid-base status.
Ed. M. Rorth u. P. Astrup, Munksgaard, Copenhagen (1972).
- FORSTER, R.E. und E.D. CRANDELL: Slow readjustment of plasma pH in blood CO_2 -exchanges.
Fed. Proc. 31, 347 (1972).
- FORSTER, R.E. und E.D. CRANDELL: Time course of exchanges between red cells and extracellular fluid during CO_2 uptake.
J. Appl. Physiol. 38 (4), 710-718 (1975).
- FREWER, R.A.: The effect of frequency changes on the electrical conductance of moving and stationary blood.
Med. Biol. Eng. 10, 734-741 (1972).
- FRICKE, H.: A mathematical treatment of the electric conductivity and capacity of disperse systems. I. The electric conductivity of a suspension of homogeneous spheroids.
Phys. Rev. 24, 575-587 (1924).

- FRICKE, H.: A mathematical treatment of the electric conductivity and capacity of disperse systems. II. The capacity of a suspension of conducting spheroids surrounded by a non-conducting membrane for a current of low frequency. Phys. Rev. 26, 678-681 (1925a).
- FRICKE, H.: The electric capacity of suspensions of red corpuscles of a dog. Phys. Rev. 26, 682-687 (1925b).
- FRICKE, H. und ST. MORSE: Electric capacity and conductivity of blood for frequencies between 800 and $4.5 \cdot 10^6$ cycles. Phys. Rev. 25, Serial 2, 895-896 (1925).
- FUNDER, J. und J.O. WIETH: Chloride and hydrogen ion distribution between human red cells and plasma. Acta Physiol. Scand. 68, 234-245 (1966).
- GEDDES, L.A. und C. SADLER: The specific resistance of blood at body temperature. Med. a. Biol. Eng. 11, 336-339 (1973).
- GERISCHER, H.: Wechselstrommethoden in der Elektrochemie. Z. Elektrochemie 58, 9-24 (1954).
- GERTZ, K.H. und H.H. LOESCHCKE: Bestimmung des Diffusionskoeffizienten von CO_2 in Wasser. Zeitschr. Naturforschung 11b, 61-64 (1956).
- GERTZ, K.H. und H.H. LOESCHCKE: Elektrode zur Bestimmung des CO_2 -Druckes. Naturwiss. 45, 160-161 (1958).
- GIBBS, H.W.: Scientific Papers 1, 83 London (1906). (Zitiert nach Henderson L.J.).
- GLEICHMANN, U. und D.W. LÜBBERS: Die Messung des Kohlensäuredruckes in Gasen und Flüssigkeiten mit der pCO_2 -Elektrode unter besonderer Berücksichtigung der gleichzeitigen Messung von pO_2 , pCO_2 und pH im Blut. Pflügers Archiv 271, 456-472 (1960).
- HENDERSON, L.J.: Blut seine Pathologie und Physiologie. Dresden (1932).
- HILL, D.W. und F.D. THOMPSON: The effect of haematocrit on the resistivity of human blood at 37°C and 100 KHz. Med. a. Biol. Eng. 13, 182-186 (1975).

- HOLLAND, R.A.B. und R.E. FORSTER: Effect of temperature on rate of CO₂ uptake by human red cell suspensions.
Am.J. Physiol. 228 (5), 1589-1596 (1975).
- ISERMANN, R.: Experimentelle Analyse der Dynamik von Regelsystemen
-Identifikation I-
Bibliographisches Institut, Mannheim, Wien, Zürich (1971).
- KLOCKE, A.: Rate of bicarbonate-chloride exchange in human red cells at 37°C.
J. Appl. Physiol. 40, 707-714 (1976).
- KOHLRAUSCH, F.: Praktische Physik.
Teubner, Stuttgart (1968).
- KORTUM, G.: Lehrbuch der Elektrochemie.
Verlag Chemie, Weinheim/Bergst. 5. Aufl (1972).
- LIEBMAN, F., J. PEARL und S. BAGNO: The electrical conductance properties of blood in motion.
Phys. Med. Biol. 7, 177-194 (1962).
- LIMBECK v., R.: Arch. f. exp. Path. 35, 309 (1894).
(Zitiert nach Henderson, L.J.).
- LUCKNER, H.: Über die Geschwindigkeit des Austausches der Atemgase im Blut.
Pflügers Arch. 241, 753 (1939).
- LUTTMANN, A., K. MÜCKENHOFF und H.H. LOESCHCKE: Investigations on the relation between acid-base-parameters and the conductivity in blood and plasma.
Pflügers Archiv, 365 R 22 (1976).
- LUTTMANN, A. und K. MÜCKENHOFF: The dynamic behaviour of CO₂ and O₂-electrodes in streaming fluids.
Pflügers Archiv 359 R 147 (1975).
- LUTTMANN, A., K. MÜCKENHOFF, und H.H. LOESCHCKE: A CO₂-electrode system with decreased response time.
Proc. Int. U. Physiol. Sci XI, 69 (1974).
- MAXWELL, J.Cl.: Treatise on electricity and magnetism.
Cambridge (1873).
- MOTAIS, R. und I.L. COUSIN: The inhibitor effect of probencid and structural analogues on organic anions and chloride permeabilities in ox erythrocytes.
Biochimica et Biophysica Acta 419, 309-313 (1976).

- MÜCKENHOFF, K.: Die Berechnung des Säure-Basen-Status des menschlichen Vollblutes mit Hilfe eines numerischen Verfahrens. Dissertation RUB, Abt. Biol. (1973).
- MÜCKENHOFF, K. und A. LUTTMANN: An automatically balancing isolation amplifier with an optical transmission system. Pflügers Archiv 365 R 52 (1976).
- NIESEL, W. und G. THEWS: Ein elektrisches Analogrechenverfahren zur Lösung physiologischer Diffusionsprobleme. Pflügers Archiv 269, 282-305 (1959).
- OKADA, R.H. und H.P. SCHWAN: An electrical method to determine hematocrits. IRE transactions on medical electronics ME 7, 188-192 (1960).
- ØRSKOV, S. .: The volume of the erythrocytes at different osmotic pressure. Acta physiol. Scand. 12, 202-242 (1946).
- PAPPENHEIMER, J.R., R.M. RENKIN und L.M. BORRERO: Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes. Am. J. Physiol. 167, 13-46 (1951).
- PIIPER, J.: Geschwindigkeit des CO₂-Austausches zwischen Erythrozyten und Plasma. Pflügers Archiv 278, 500-512 (1964).
- PIIPER, J. und H.P. KOEPCHEN: Atmung . Aus Physiologie des Menschen Band 6. Ed. Gauer O.H., K. Kramer, R. Jung, Urban und Schwarzenberg, München, Berlin, Wien (1972).
- PLATTS, M.M. und M.S. GREAVES: The composition of the blood in respiratory acidosis. Clin. Sci. 16, 695-708 (1957).
- PONDER, E.: The measurement of red cell volume. Conductivity measurements. J. Physiol. 85, 439-449 (1935).
- PONDER, E.: Red cell structure and its breakdown. Wien, (1955).
- RAJEWSKY, B. und H. SCHWAN: Über die individuellen Schwankungen des spezifischen Widerstandes von Blut und Serum. Zeitschr. f. d. Ges. Exp. Med. 113, 553-565 (1944).

- ROUGHTON, F.J.W.: Transport of oxygen and carbon dioxide.
S. 767-825.
In : Handbook of Physiology, Respiration I
Ed. Am. Physiol. Soc., Washington (1964).
- SAVITZ, D., V.W. SIDEL und A.K. SOLOMON: Osmotic Properties of
human red cells.
J. Gen. Physiol. 79-94 (1964).
- SCHMID-SCHÖNBEIN, H. und R. WELLS: Fluid drop-like transition of
erythrocytes under shear.
Science 165, 288-291 (1969).
- SCHULER R. und F. KREUZER: Rapid polarographic in vivo oxygen
catheter electrodes.
Resp. Physiol. 3, 90-110 (1967)
- SCHULTEHINRICHS, D., H.R. VOGEL und G. THEWS: Modelluntersuchungen
zum Austausch der Atemgase. II. Der zeitliche Ablauf des
Bohr-Effektes.
Pflügers Archiv 301, 302-310 (1968).
- SCHWAN, H.: Über die Niederfrequenzleitfähigkeit von Blut und
Blutserum bei verschiedenen Temperaturen!
Zeitschrift f. d. Ges. Exp. Med. 109, 531-545 (1941).
- SCHWAN, H.: Eine elektrische Methode zur Bestimmung der Erythro-
cytenzahl.
Pflügers Archiv 251, 550-558 (1949).
- SEVERINGHAUS, J.W. und F. BRADLEY: Electrodes for blood p_{O_2} and
 p_{CO_2} determination.
J. Appl. Physiol. 13, 515-520 (1958).
- SIESJÖ, B.K.: Active and passive mechanisms in the regulation of
the acid-base metabolism of brain tissue. S. 331-371
In : Cerebrospinal fluid and the regulation of ventilation.
Ed. Brooks C.M., Kao F.F., und Lloyd, B.B., Oxford Blackwell
Sc.- Publ. (1965).
- SIGGARD-ANDERSEN: Discussion to: Steen, J.B. and St.N. Turitzin
Hydrogen ion gradients across red cell membranes, S. 289
In: Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid
base balance.
Ed. M. Rorth und P. Astrup, Munksgaard, Copenhagen (1972).
- SIGMAN, E., A. KOLIN, L. KATZ und K. JOCHIM: Effect of motion on
the electrical conductivity of the blood.
Am. J. Physiol. 118, 708-719 (1937).

- SINGER R.B. und A.B. HASTINGS: An improved clinical method of the estimation of disturbances of acid-base balance of human blood.
Medicine (Baltimore) 27, 233-242 (1948).
- SIRS, J.A.: Red cell structure and the haematocrit.
Clin. Sci, 43 9P (1972).
- SLYKE, v., D.D., A.B. HASTINGS, C. MURRAY und I. SENDROY: Studies of gas and electrolyte equilibria in blood.
J. of Biol. Chem. 65, 701-728 (1925).
- SLYKE v., D.D., H. WU und F.C. Mc LEAN: Studies of gas and electrolyte and water distribution in the blood. V. Factors controlling the electrolyte and water distribution in the blood.
J. Biol. Chem. 56, 765-849 (1923).
- SOLOMON, A.K.: Red cell membrane structure and ion transport.
J. Gen. Physiol. Suppl. I, 43, 1-45 (1960).
- STEEN, J.B. und ST.N. TURITZIN: Hydrogen ion gradients across red cell membranes. S. 282-288
In: Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid base balance.
Ed. M. Rorth und P. Astrup, Munksgaard, Copenhagen (1972).
- STOW, R.W. und B. RANDALL: Electrical measurement of the p_{CO_2} of blood.
Am. J. Physiol. 179, 678 (1954).
- STOW, R.W., R.F. BAER, und B. RANDALL: Rapid measurement of the tension of carbon dioxide in blood.
Arch. Phys. Med. 38, 646 (1957).
- TEORELL, T.: Permeability properties of erythrocyte ghosts.
J. Gen. Physiol. 35 669-701 (1952).
- TOSTESON, D.C.: Halide transport in red blood cells.
Acta Physiol. Scand. 46, 19 (1959).
- VELICK, S. und M. GORIN: The electrical conductance of suspensions of ellipsoids and its relation to the study of avian erythrocytes.
J. Gen. Physiol. 23, 753-771 (1940).
- WARBURG, E.J.: Studies on carbonic acid compounds and hydrogen ion activities in blood and salt solutions.
Biochem. J. 16, 153-340 (1922).

WIETH, J.O.: Discussion to: Steen J.B. und St. N. Turitzin:
Hydrogen ion gradients across red cell membranes. S. 289
In: Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid
base status.
Ed. M. Rorth und P. Astrup, Munksgaard, Copenhagen (1972).

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. med. Dr. h.c. H.H. Loeschcke für die freundliche Überlassung des Themas und die jederzeit hilfsbereite Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit danken.

Zu Dank verpflichtet bin ich weiterhin Herrn Dr. K. Mückenhoff für seine hilfsbereite Unterstützung und für manche anregende Diskussion.

Für die sorgfältige Mitarbeit bei der Fertigstellung dieses Manuskriptes habe ich Frl. D. Schüler und Frl. M. Duparc zu danken.

Lebenslauf

Am 6.9.1943 wurde ich als Sohn des Tischlermeisters Hermann Luttmann und seiner Ehefrau Helene geb. Untiedt in Wieste geboren.

Nach bestandener Reifeprüfung im März 1963 am Gymnasium in Meppen und einer halbjährigen Praktikantentätigkeit begann ich im Wintersemester 1963/64 das Studium der Elektrotechnik an der Technischen Hochschule in Hannover. Ich beendete es im September 1969 mit dem Erwerb des Grades eines Diplom-Ingenieurs.

Von November 1969 bis September 1970 war ich als wissenschaftlicher Angestellter an der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt in Braunschweig beschäftigt. Seit Dezember 1970 bin ich als wissenschaftlicher Assistent am Lehrstuhl I des Institutes für Physiologie der Ruhr-Universität Bochum tätig.

